



**Ana Maria de Jesus
Perdigão**

**Controlo de Qualidade e Análise de Águas de
Consumo Humano**



**Ana Maria de Jesus
Perdigão**

**Controlo de Qualidade e Análise de Águas de
Consumo Humano**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química Analítica e Qualidade, realizada sob a orientação científica do Doutor João Pedro Coelho, Investigador de Pós-Doutoramento do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e co-orientação da Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira, Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

o júri

presidente

Professor Doutor Artur Manuel Soares da Silva
Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Professora Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira
Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Professor Doutor Pedro Emanuel Pato Martins
Professor Assistente Convidado da Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Viana do Castelo

Doutor João Pedro Martins Coelho
Investigador em Pós Doutoramento do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

À Doutora Eduarda Pereira;

Ao Doutor Pedro Coelho;

À Doutora Ana Maria Félix;

À Doutora Rosário Figueiredo;

A todos os funcionários do Laboratório de Saúde Pública de Aveiro;

À Sónia, Daniela, Luísa, Paulina e a todos os meus amigos;

À Graça e ao Zé Tila;

Aos meus pais e irmãos;

Ao Tiago, por tudo.

Muito Obrigada a todos!

palavras-chave

Qualidade da água, água de consumo humano, controlo de qualidade.

resumo

A água é um recurso essencial à vida. Contudo, trata-se de um recurso limitado, motivo pelo que deve ser usado de forma racional e sustentável. No presente trabalho foi avaliada a qualidade da água de consumo humano de acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, em amostras recebidas no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro.

A implementação de um conjunto de técnicas e análises assume um papel central na resposta às exigências de qualidade com que um laboratório químico de análise de águas se depara. Desta forma, foi efetuado o estudo de alguns dos métodos analíticos aplicados no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro para análise da qualidade das águas destinadas a consumo humano, incidindo o trabalho sobre os parâmetros nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro. Como resultado da avaliação dos parâmetros de controlo de qualidade para cada método analítico, verificou-se que de um modo geral, os métodos utilizados estiveram sob controlo analítico.

As 359 amostras de água que foram analisadas deram entrada no Laboratório entre outubro de 2010 e maio de 2011, e eram provenientes de diferentes captações: poços, furos, fontes ou rede pública. Verificou-se que 64,1% das amostras de água analisadas estavam de acordo com o estipulado pela legislação aplicável, enquanto que 35,9% das análises revelaram valores superiores ao valor paramétrico legislado. Verificou-se ainda que o pH foi o parâmetro com o maior número de irregularidades registadas. A maior percentagem de valores superiores aos valores paramétricos foi obtida para amostras de águas provenientes de poços, furos, fontes ou fontanários.

keywords

Water quality, drinking water, quality control

abstract

Water is an essential resource for life and good health. However, as the industry, cities and populations grow, and the needs for water increase, it is becoming a scarce resource worldwide and, therefore, must be used in a rational and sustainable way.

The aim of this work was to investigate the analytical methods currently employed at the Public Health Laboratory of Aveiro to evaluate the quality of drinking water. The main parameters tested were nitrates, nitrites, ammonium and iron, according to the Portuguese law (Decreto-Lei nº 306/2007, August 27th).

The implementation of standard techniques and analytical procedures assumes a major importance in the quality assurance process of every laboratory. As a result of the evaluation of the quality control parameters for each analytical method, it was observed that, in general, the employed methods are in agreement with the legal requirements for the analytical control.

From October 2010 to May 2011, 359 water samples collected from different sources were received and analyzed at the Public Health Laboratory of Aveiro. Among the analyzed water samples, 64,1 % were in agreement with the legal defined parameters, while 35,9 % revealed higher values than the parametric values.

It was observed that pH was the most affected parameter, linked with the highest number of irregularities registered. Furthermore, the water samples collected at wells, pits and public fountains gave rise to the highest amount of irregular analytical values.

Índice

Índice de figuras	IX
Índice de tabelas	XI
INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
1.1 O recurso água	3
1.2 Água para consumo humano	5
1.3 Importância da análise das águas de consumo humano	8
1.4 Controlo de qualidade das análises efetuadas às águas	10
1.4.1 Controlo de Qualidade Interno	11
1.4.2 Controlo de Qualidade Externo.....	14
1.5 Legislação para as águas de consumo humano	15
1.6 Objetivos do trabalho.....	16
MATERIAIS e MÉTODOS	17
2.1 Locais de recolha das amostras analisadas	19
2.2 Amostras de águas de consumo humano analisadas no laboratório	20
2.3 Parâmetros analisados no Laboratório	21
2.4 Métodos analíticos usados pelo laboratório e baseados na espectrometria de absorção molecular – métodos para os quais foi efetuado o controlo de qualidade	24
2.5 Controlo de qualidade dos resultados	31
2.6 Avaliação da qualidade das águas de consumo humano.....	31
RESULTADOS e DISCUSSÃO	33
3.1 Controlo de qualidade dos resultados	35
3.1.1 Calibração.....	35
3.1.2 Avaliação de duplicados.....	46
3.1.3 Testes de recuperação	47
3.1.4 Cartas de controlo	48
3.2 Qualidade das águas de consumo humano analisadas no âmbito do estágio	59
CONCLUSÕES.....	67
BIBLIOGRAFIA.....	71

Índice de figuras

Figura 1 – Esquema representativo do ciclo hidrológico.....	3
Figura 2 – Mapa do Distrito de Aveiro	19
Figura 3 – Reta de calibração para análise de nitratos	36
Figura 4 – Gráfico de resíduos da reta de calibração dos nitratos	37
Figura 5 – Carta de controlo para declives da curva de calibração para análise de nitratos	49
Figura 6 – Carta de controlo para declives da curva de calibração para análise de nitritos	49
Figura 7 – Carta de controlo para declives da curva de calibração para análise de azoto amoniacal... ..	49
Figura 8 – Carta de controlo para declives da curva de calibração para análise de ferro	50
Figura 9 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de nitratos	51
Figura 10 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de nitritos	51
Figura 11 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de azoto amoniacal	51
Figura 12 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de ferro.....	52
Figura 13 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitratos em 2010.....	53
Figura 14 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitratos em 2011.....	53
Figura 15 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitritos em 2010.....	54
Figura 16 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitritos em 2011.....	54
Figura 17 – Carta de controlo da concentração do padrão de azoto amoniacal em 2010.....	55
Figura 18 – Carta de controlo da concentração do padrão de azoto amoniacal em 2011.....	55
Figura 19 – Carta de controlo da concentração do padrão de ferro em 2010	56
Figura 20 – Carta de controlo da concentração do padrão de ferro em 2011	56
Figura 21 – Percentagens de amostras provenientes das diferentes origens e sujeitas ou não a tratamento	59
Figura 22 – Número de amostras de diferentes origens sujeitas ou não a tratamento	60
Figura 23 – Percentagem de amostras analisadas que estão de acordo com o valor paramétrico legislado	60
Figura 24 – Número de amostras de diferentes origens que estão de acordo com o valor paramétrico legislado (VP)	61
Figura 25 – Percentagem de amostras de diferentes origens que tem valores superiores ou inferiores ao valor paramétrico legislado e foram (ou não) sujeitas a tratamento.....	61

Figura 26 – Número de amostras que cumprem a legislação por parâmetro	63
Figura 27 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para nitratos	63
Figura 28 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para nitritos	64
Figura 29 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para azoto amoniacal....	64
Figura 30 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para o ferro	64

Índice de tabelas

Tabela 1 - Métodos analíticos usados para determinação dos vários parâmetros químicos.....	21
Tabela 2 - Valores paramétricos para águas de consumo humano.....	22
Tabela 3 - Frequência mínima de amostragem e de análise da água destinada a consumo	23
Tabela 4 - Valores paramétricos, de exatidão, precisão e limite de detecção, segundo o Decreto-Lei nº306/2007 para parâmetros de interesse para este trabalho.....	24
Tabela 5 – Concentração das soluções padrão de nitratos usadas para traçar a curva de calibração	26
Tabela 6 – Concentração das soluções padrão de nitritos usadas para traçar a curva de calibração	27
Tabela 7 – Concentração das soluções padrão de azoto amoniacal usadas para traçar a curva de calibração	29
Tabela 8 – Concentração das soluções padrão de ferro usadas para traçar a curva de calibração	30
Tabela 9 - Intensidade do sinal em função da concentração de nitratos, desvio padrão e intervalo de confiança do sinal.....	35
Tabela 10 – Teste <i>t</i> (teste de hipóteses) para decisão de pontos pertencentes à reta de calibração	36
Tabela 11 – Parâmetros da reta de calibração	37
Tabela 12 – Teste <i>F</i> para verificar a linearidade da curva de calibração	38
Tabela 13 – Intensidades lidas para o padrão mais baixo e mais alto da gama de trabalho dos nitratos	39
Tabela 14 – Teste <i>PG</i> para verificar o ajuste da gama de concentração dos padrões utilizados nos parâmetros estudados	39
Tabela 15 – Limiares analíticos para nitratos	40
Tabela 16 – Parâmetros das retas de calibração calculadas para a determinação de nitratos.....	42
Tabela 17 – Parâmetros das retas de calibração calculadas para a determinação de nitritos.....	43
Tabela 18 – Parâmetros das retas de calibração calculadas para a determinação de azoto amoniacal	44
Tabela 19 – Parâmetros das retas de calibração calculadas para a determinação de ferro	45
Tabela 20 – Avaliação de duplicados em amostras analisadas para nitratos.....	46

Tabela 21 – Avaliação de duplicados em amostras analisadas para ferro	46
Tabela 22 – Percentagem dos testes de recuperação para nitratos	47
Tabela 23 – Percentagem dos testes de recuperação para ferro.....	47
Tabela 24 – Valores obtidos para o controlo de qualidade efetuado para cada parâmetro	58
Tabela 25 – Número de análises por parâmetro e percentagem de resultados superiores ao valor paramétrico.....	62

Capítulo 1

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 O recurso água

A água é um composto químico essencial à vida, é um dos recursos naturais mais abundante no planeta e um dos mais necessários para todas as atividades humanas. À água está associado um ciclo hidrológico que a mantém em permanente circulação entre os diversos compartimentos ambientais. Neste ciclo hidrológico estabelece-se um sistema fechado em que se mantém praticamente constante a quantidade de água existente no planeta (Mendes & Oliveira, 2004). No ciclo hidrológico (Figura 1), através da energia solar e influenciados pelas pressões atmosféricas, existem fenómenos como evaporação, condensação, precipitação, escoamento, retenção da água na superfície e a sua infiltração no subsolo, que mantêm o movimento da água entre a superfície terrestre e a atmosfera (Hammer, 1996; Mendes & Oliveira, 2004).

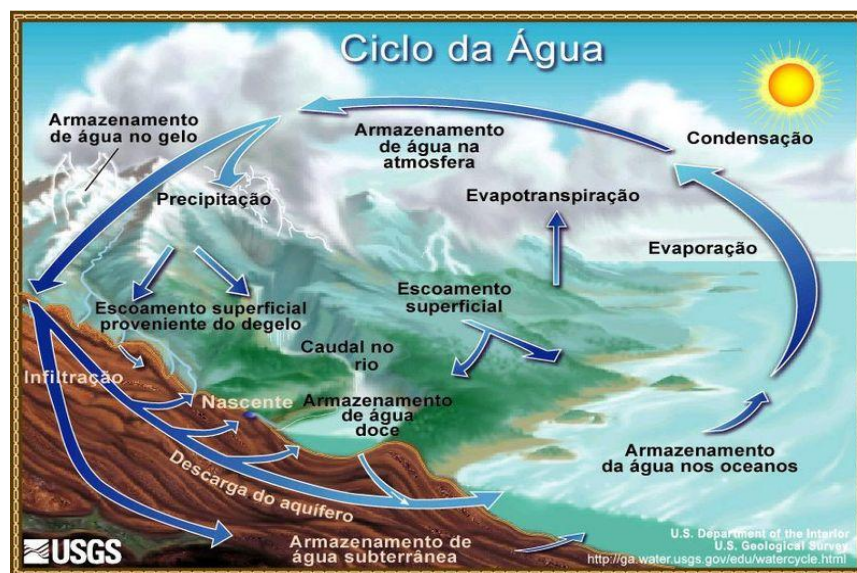


Figura 1 – Esquema representativo do ciclo hidrológico (Adaptado de [1]).

A quantidade de água existente no planeta Terra encontra-se maioritariamente nos oceanos e mares interiores e, dessa quantidade, apenas uma parcela muito pequena é água doce. A água doce é indispensável à vida do Homem e de todos os organismos vivos, por isso se torna um recurso importante. A água doce encontra-se em grande parte em glaciares e gelos polares, somente uma quantidade pequena se encontra em rios, lagos, atmosfera, solos (humidade) e na constituição dos organismos (Kay, 1999).

A água enquanto composto químico é constituída por dois átomos de hidrogénio e um átomo de oxigénio ligados por ligações covalentes. É uma estrutura polar que é responsável por propriedades biológicas de grande importância que a tornam tão útil. A estrutura das moléculas em que o princípio da vida é baseado, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos ou carboidratos, resulta diretamente das suas interações com o meio aquoso. Existem importantes associações intramoleculares e intermoleculares destas estruturas com a água que não são possíveis com nenhum outro solvente. Assim, a organização estrutural e química dos seres vivos não poderia existir sem ser num meio aquoso (Voet, 2011). Por exemplo, o corpo humano contém cerca de 65% de água que atua em diversos processos metabólicos, é reguladora da temperatura corporal interna através da transpiração e, através do sangue constituído por cerca de 80% de água, atua no transporte de nutrientes e oxigénio até às células. A ingestão de água é fundamental para um bom equilíbrio iónico, sendo recomendado o consumo de dois litros de água em média por dia (Mendes & Oliveira, 2004).

A água na natureza não se encontra no seu estado puro, devido às suas características físico-químicas, encontrando-se em solução e/ou suspensão espécies orgânicas e inorgânicas, como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ ou Cl^- , e gases dissolvidos na água, como o azoto, O_2 ou CO_2 , que afectam a qualidade das águas e consequentemente o funcionamento dos organismos. A composição química das águas naturais varia com a localização, clima e vegetação da bacia hidrográfica, natureza geológica e vegetação terrestres e aquática (Kegleyand & Andrews, 1998; Mendes & Oliveira, 2004).

A água, utilizada para finalidades muito diferentes ao longo dos tempos, principalmente após a expansão urbana e industrial, nem sempre foi usada de forma adequada, havendo muitos desperdícios e subaproveitamentos deste recurso que deterioraram a sua qualidade, levando ao aparecimento de problemas de saúde pública. Desta forma, devido à importância da água na vida humana, foi reconhecida a necessidade de mudanças na gestão da água e de uma maior responsabilidade, evidenciado num maior controlo de qualidade das águas (Doria *et al.*, 2009; Waite, 1984; Zuane, 1990).

1.2 Água para consumo humano

A água na natureza, devido às suas propriedades físico-químicas, normalmente não se encontra com a qualidade adequada para consumo humano direto, apenas as águas minerais naturais e as águas de nascente mantêm a sua qualidade original (Mendes & Oliveira, 2004). A qualidade da água é um conceito relativo, uma vez que nenhuma água é boa/adequada para todos os fins. A água destilada, por exemplo, não serve para beber, pois o seu consumo retira minerais do organismo, o que poderia causar a morte. Já a água de consumo humano não pode ser utilizada em determinadas indústrias, como por exemplo na indústria de branqueamento de pasta de papel, em que a quantidade de ferro existente neste tipo de águas iria causar manchas de ferrugem no produto (Mendes & Oliveira, 2004).

O enorme crescimento populacional e industrial teve como consequência a poluição do ambiente, que tem causado mudanças no planeta tais como o aquecimento global, destruição da camada do ozono ou perda de biodiversidade, fatores que influenciam a qualidade da água e que a torna menos disponível para consumo humano (Vitale *et al.*, 2005).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o acesso a água limpa e salubre é um direito humano básico e essencial para a saúde pública. Esta organização define que a água potável não deve representar qualquer risco significativo para a saúde humana enquanto consumida ao longo da vida (WHO, 2011). O acesso a água com características adequadas ao consumo humano, para muitas pessoas está no abrir de uma torneira ou da garrafa do supermercado, pois nestes casos o país tem tecnologias de tratamento e controlo de qualidade da água. Por outro lado, para milhões de pessoas esse acesso ainda não é possível; a falta de água, a água poluída e insalubre causa a morte de 5 a 12 milhões de pessoas por ano e cerca de 2,3 biliões de pessoas em todo o mundo sofrem de doenças associadas à falta de qualidade da água, sendo a maioria das vítimas crianças nos países em desenvolvimento (Vitale *et al.*, 2005).

A legislação Portuguesa considera uma água destinada ao consumo humano toda a água, que no seu estado original ou após tratamento é destinada à ingestão, à confecção, à preparação de alimentos, à higiene pessoal ou a outros fins domésticos, independentemente da sua origem e do tipo do seu fornecimento. É ainda considerada como água destinada ao consumo humano, toda a água utilizada na indústria alimentar para fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias que, também eles, são destinados ao consumo humano. Há ainda a considerar todas as águas que, eventualmente, contactem com os alimentos,

tais como as águas utilizadas na limpeza de superfícies, objetos e materiais (Decreto-Lei nº306/2007). As águas que são consideradas como produtos medicinais, bem como as águas provenientes de fontes individuais são isentas dos critérios impostos por lei para águas de consumo, desde que estas sirvam menos de 50 pessoas ou que sejam objecto de consumos inferiores a 10 m³/dia em média, exceptuando os casos em que a água seja fornecida no âmbito de uma atividade pública ou de uma atividade privada de natureza comercial, industrial ou de outros serviços (Decreto-Lei nº306/2007). Para garantir a qualidade das águas de consumo humano é necessária uma maior responsabilidade por parte das entidades gestoras, obrigando ao controlo analítico regular e assegurando maior proteção da saúde.

O tratamento das águas para consumo humano teve início somente nos últimos cem anos, começou apenas com desinfecção e/ou filtração da água, mas nos últimos cinquenta anos observou-se um grande desenvolvimento ao nível dos tratamentos e análises de água, em particular de análises químicas (Zuane, 1990). As águas existentes na natureza, quer superficiais quer subterrâneas, contêm diversos microrganismos (bactérias, fungos, parasitas, etc) e substâncias químicas (cálcio, potássio, sulfatos, nitratos, etc) que, quando consumidas sem qualquer tratamento ou controlo de qualidade podem causar uma variedade de doenças, devido a alguns destes microrganismos poderem ser patogénicos para o Homem (Mendes & Oliveira, 2004). Desta forma, a melhoria da qualidade da água e a sua potabilidade passa pelo tratamento adequado das águas residuais que difundem e disseminam muitos dos agentes patogénicos, a recolha e tratamentos dos resíduos sólidos urbanos, a eliminação de focos de proliferação de insetos, cheiros e insalubridade genérica. Os fatores que podem influenciar a qualidade de uma água para consumo humano dependem de: clima e precipitação, concentração populacional servida, estado e manutenção dos sistemas de abastecimento de água ou condições económicas como a industrialização do local (Mendes & Oliveira, 2004; Zuane, 1990).

A água distribuída para o consumo humano tem diferentes origens de captação, pode ser subterrânea ou superficial. A água subterrânea está infiltrada no subsolo e pode ser captada de várias formas: por nascentes, por galerias drenantes, por furos e poços até ao nível freático, ou por bombagem onde exista água acumulada. A água de superfície é captada nos rios, canais, ribeiras, lagos, bacias de retenção e albufeiras. Normalmente a água necessita de tratamento prévio para satisfazer os critérios bacteriológicos e físico-químicos de uma água de consumo humano e é distribuída aos consumidores através de uma rede de distribuição pública (Gadgil, 1998; Mendes & Oliveira, 2004).

O tratamento da água consiste num conjunto de procedimentos físicos e químicos que são aplicados na água para que esta fique em condições adequadas para o consumo, ou seja, para que a água se torne potável.

As águas subterrâneas são menos vulneráveis à poluição que as águas superficiais. De um modo geral, a água subterrânea não contém oxigénio dissolvido e podem encontrar-se neste tipo de água algumas substâncias como o gás carbónico, ferro, manganês, azoto amoniacal ou ácidos húmicos e mais raramente nitratos e pesticidas (em zonas onde se pratique agricultura intensiva). As tecnologias de tratamento para tornar este tipo de água em água de consumo humano são geralmente: arejamento, para oxigenar e retirar gás carbónico; filtração, através de areia para eliminar ferro e manganês e eventualmente azoto amoniacal; desinfecção (geralmente com cloro através de uma solução de hipoclorito de sódio), para garantir a qualidade bacteriológica durante a adução (tubagem usada para a condução de água) até à distribuição e tratamentos específicos quando é necessário, por exemplo, a eliminação de nitratos e pesticidas (Gadgil, 1998).

O tratamento das águas superficiais é mais complexo devido à composição destas águas ser mais variável. Contém oxigénio dissolvido, bactérias e matérias em suspensão (turvação), como algas e substâncias orgânicas que podem originar problemas de odores e sabores. Existem diversos processos de tratamento tais como: gradagem da água bruta para remover sólidos grosseiros antes do início da trajetória para a estação de tratamento, armazenamento com arejamento, pré-ozonização ou pré-oxidação com ozono, controlo da alcalinidade da água (injeção de agente regulador de pH), coagulação (mistura rápida), floculação (mistura lenta), decantação, filtração, ozonização intermédia e desinfecção (Carneiro, 2007; [2]).

Assim, a captação, as estações de tratamento e a distribuição da água constituem as partes fundamentais de um sistema de abastecimento de água, para que seja possível obter uma água de qualidade aceitável e apropriada para consumo humano, bem como evitar riscos para a saúde pública.

1.3 Importância da análise das águas de consumo humano

A água é um bem essencial e indispensável à sobrevivência dos seres vivos. O Homem sem água apenas consegue sobreviver até quatro dias, pelo que desde os primórdios da Humanidade que as comunidades se instalaram junto de zonas com acesso a água, como rios, lagos ou mares (Barata, 2006).

A avaliação da qualidade das águas é cada vez mais importante devido ao crescimento populacional e industrial no mundo inteiro, que leva a um maior consumo da água disponível nas reservas hídricas mundiais. O consumo desmedido de água e a sua poluição pode ter inúmeras consequências para a saúde das populações, para o equilíbrio dos ecossistemas ou até mesmo levar à escassez ou desequilíbrio entre água necessária e disponível para consumo humano (Peixoto, 1979; Waite, 1984). Desta forma, torna-se essencial proteger os recursos hídricos, tratando-os e evitando a sua poluição.

Poluição da água pode definir-se como as substâncias “estranhas”, em solução ou suspensão na água, que a tornam inadequada para uma potencial utilização. A diferença entre a presença de determinadas substâncias “habituais” e em quantidades normais na água e a presença de substâncias “inabituais” e em quantidade excessiva permite avaliar a qualidade da água. As substâncias “inabituais” integram-se nas cadeias tróficas, são transferidas para a fase gasosa ou incorporam-se nos sedimentos por precipitação ou outros processos físico-químicos (Mendes & Oliveira, 2004). Qualquer modificação na água, quer natural ou artificial, que direta ou indiretamente modifique a sua qualidade, altere ou destrua o equilíbrio dos ecossistemas e dos recursos naturais pode provocar perigos para a saúde pública, diminuir a sua adequabilidade para o bem-estar do Homem e reduzir os usos benéficos da água.

Consideram-se geralmente três tipos de poluição das águas: poluição orgânica, poluição microbiana e poluição inorgânica (Gleick, 2003). A poluição microbiana é uma preocupação nas águas de consumo humano, porque microrganismos como bactérias, vírus ou parasitas são contaminantes da água, que quando consumida pode causar doenças e epidemias. As bactérias são os microrganismos que mais frequentemente contaminam a água; no entanto, existe uma diversidade muito grande de organismos não patogénicos e patogénicos que coabitam nos mesmos meios. Os organismos patogénicos são quase na sua totalidade de origem fecal e são considerados indicadores deste tipo de contaminação. A sua possível presença pode ser indicada indiretamente pela detecção de organismos não patogénicos de origem fecal, cuja determinação

é mais fácil e acessível em amostras de água (Hageskal *et al.*, 2009; Olaoye & Onilude, 2009; WHO, 2011).

No que respeita ao ambiente, a qualidade da água de sistemas aquáticos pode comprometer a sua utilização para produção de água de consumo humano quando existem elevados teores de nutrientes, dando origem ao designado processo de eutrofização. Este termo refere-se a um excesso de nutrientes (nomeadamente compostos ricos em azoto e fósforo) em sistemas aquáticos, que provocam um crescimento exagerado de algumas espécies de algas. A eutrofização pode ocorrer naturalmente, ou ser resultado das atividades humanas; geralmente as fontes de nutrientes mais comuns são os fertilizantes utilizados em campos agrícolas, os esgotos urbanos ou os efluentes industriais, sendo os principais efeitos deste processo a perda de biodiversidade, alterações na composição das espécies químicas e efeitos tóxicos (Hammer, 1996; Mendes & Oliveira, 2004).

Fontes de poluição das águas subterrâneas, tais como a agricultura, suiniculturas, águas residuais domésticas ou efluentes industriais arrastam para a água contaminantes químicos e microbiológicos, tornando-a inadequada para consumo humano. A excessiva poluição e a má gestão da água disponível obrigam a um rigoroso controlo de qualidade através de análises regulares e tratamentos adequados (Mendes & Oliveira, 2004; Schriks *et al.*, 2010; Waite, 1984).

A água para consumo humano deve cumprir critérios de qualidade que garantam a segurança da sua utilização no que respeita à saúde pública e deve ser frequentemente analisada de uma forma quantitativa e não apenas qualitativa (Ramesh *et al.*, 2010; Zuane, 1990).

1.4 Controlo de qualidade das análises efetuadas às águas

Até meados do século XX, a qualidade da água para consumo humano era avaliada essencialmente através das suas características organolépticas, tendo como base o senso comum de se exigir que a água se apresentasse límpida, agradável ao paladar e sem cheiro desagradável. No entanto, este tipo de avaliação revelou-se ineficaz em termos de proteção da saúde pública contra microrganismos patogénicos e contra substâncias químicas perigosas presentes na água. Por isso, foi necessário desenvolver técnicas analíticas, físico-químicas, radiológicas e microbiológicas, cujo número e complexidade analítica tem crescido ao longo das últimas décadas, para avaliar a qualidade da água destinada ao consumo humano (Belitz *et al.*, 2004; Mendes & Oliveira, 2004; Ramesh *et al.*, 2010). Atualmente o controlo de qualidade engloba ações concretas, no dia-a-dia, para garantir que os resultados obtidos sejam de confiança, ou seja, a ausência de erros nos ensaios concretos que são realizados. A qualidade das análises químicas e microbiológicas da água é crucial em diversas áreas da nossa sociedade, nomeadamente na saúde pública.

A norma NP EN ISO 17025 reflete as práticas profissionais e a experiência de acreditação de laboratórios na Europa (NP EN 45001) e no resto do Mundo (Guia ISO/CEI 25) e incide principalmente sobre o nível dos requisitos do sistemas de gestão da ISO 9001:2000, consistindo em conceitos aplicados a laboratórios para realizar ensaios e/ou calibrações, incluindo amostragem (Quevauviller & Thompson, 2006).

Para determinar se uma água tem ou não a qualidade pretendida devem medir-se sistematicamente as concentrações dos seus principais constituintes. No procedimento de análise química e microbiológica das águas, as manipulações envolvidas são suscetíveis de acumular erros (aleatórios e/ou sistemáticos) que podem afetar de forma significativa alguns resultados finais. Desta forma, é muito importante que um laboratório disponha de meios e critérios objetivos para demonstrar que os métodos de ensaio que são praticados apresentam resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida (Guia RELACRE, N°13, 2000).

De forma a garantir e melhorar a eficácia do controlo de qualidade de um laboratório é necessário avaliar a exatidão dos resultados e controlar a sua precisão. Deve-se também conhecer e identificar as potenciais causas de erros para tentar eliminá-las, baseando-se num processo de controlo analítico. E, como princípio básico da validação de resultados, assume-se que “um

resultado para ser dado como válido tem que satisfazer os requisitos de qualidade que lhe sejam exigidos” (Guia RELACRE, Nº13, 2000).

O controlo de qualidade num laboratório é geralmente dividido em controlo interno e controlo externo. O controlo interno depende somente dos meios do próprio laboratório e o controlo externo depende de ações de comparação com laboratórios externos.

1.4.1 Controlo de Qualidade Interno

O controlo de qualidade interno é o conjunto dos procedimentos postos em prática no Laboratório, com o objetivo de permitir o controlo da qualidade dos resultados das análises à medida que as mesmas são executadas. Em análises químicas, utilizam-se procedimentos como o uso de curvas de calibração, análise de brancos e soluções padrão de controlo, análise de duplicados, ensaios de recuperação e cartas de controlo.

A calibração analítica efetuada na secção de análises químicas a águas de consumo humano é realizada através da reta de calibração de acordo com a ISO 8466-1. Os critérios de aceitação de uma curva de calibração dependem da linearidade e da estabilidade entre calibrações, e o laboratório pode adotar calibrações periódicas quando se cumprem os seguintes itens:

- Trabalho com matrizes conhecidas e estáveis;
- Comprovar um historial prévio de pelo menos 5 calibrações sucessivas com a periodicidade pretendida, que demonstrem a estabilidade do sistema analítico, pela semelhança dos parâmetros obtidos;
- Verificar a validade da calibração em vigor para cada sessão de trabalho nos dois pontos extremos da reta (para controlo do declive) e verificar o branco no caso da gama baixa (para controlo de contaminações).

Deve-se ter em atenção que, sempre que existe mudança de reagentes, mudança de lâmpadas (na absorção atómica) ou de colunas cromatográficas, qualquer outra intervenção no equipamento ou alteração de instalações ou de pessoal são suscetíveis de alterar significativamente a estabilidade do sistema analítico e a sua resposta (IPAC, 2010).

Para efetuar a calibração são recomendados dez padrões, não devendo ser em número inferior a cinco e devem distribuir-se equitativamente pela gama de trabalho; o branco (solução

com todos os reagentes, exceto o analito) normalmente tem valores diferentes de zero e por isso deve ser incluído na curva de calibração (Guia RELACRE, Nº13, 2000).

O coeficiente de correlação (r) da curva pode tomar valores entre $-1 \leq r \leq +1$, sendo o valor positivo uma correlação positiva e o valor negativo uma correlação negativa. Em análises químicas, as curvas de calibração devem ter valores de coeficiente de correlação superiores a 0.995, mas este valor depende dos critérios internos do laboratório e dos métodos analíticos utilizados (Guia RELACRE, Nº13, 2000). Ao utilizar uma curva de calibração deve-se também verificar a gama de trabalho através do teste de homogeneidades de variâncias.

O cálculo dos limiares analíticos, limite de detecção e limite de quantificação, é importante para se conhecer a capacidade de detecção e quantificação do método analítico. O limite de detecção corresponde ao teor mínimo medido, diferente de zero, a partir do qual é possível detetar, com uma dada confiança estatística (normalmente 95%), a presença do analito. Este valor detetado numa amostra não pode ser quantificado como um valor exato. O limite de detecção pode ser determinado a partir dos dados de uma calibração linear (Guia RELACRE Nº3, 1996; Miller & Miller, 2005). O limite de quantificação corresponde ao início da gama em que o coeficiente de variação (incerteza relativa) do sinal se reduz a valores razoáveis (normalmente 10%) para se poder efetuar uma detecção quantitativa. Um laboratório deve apresentar os resultados abaixo deste limite de quantificação como inferiores ao valor numérico desse limite (IPAC, 2010). Geralmente este valor corresponde ao padrão mais baixo, diferente de zero, utilizado na calibração. O limite de quantificação também se pode determinar a partir dos dados da calibração linear (Miller & Miller, 2005).

O controlo de qualidade interno estabelecido num laboratório para controlo das análises de rotina devem ser baseados em:

- Uso de Materiais de Referência Internos (MRI);
- Uso de técnicas complementares de controlo de qualidade;
- Uso de cartas de controlo estatístico (Guia RELACRE Nº3, 1996; IPAC, 2010).

Os materiais de referência internos, normalmente preparados no laboratório, devem ter uma estabilidade tal que permita controlar a precisão ao longo do tempo.

Nas técnicas complementares incluem-se análise de brancos, em paralelo com as amostras, uso de análise de duplicados ou testes de recuperação. A análise de amostras em duplicado, tanto em parâmetros químicos como microbiológicos, deve ser utilizada para a detecção de erros acidentais e para o controlo da repetibilidade. Normalmente utilizam-se em análises que possuem muitos passos no procedimento experimental, pois este é uma fonte de

erros, em amostras instáveis ou de difícil homogeneização. Os testes de recuperação do analito são efetuados através da análise de uma amostra que já foi analisada, à qual se adiciona um volume de padrão com concentração conhecida do analito, para verificar se a concentração final é igual à soma das duas concentrações (Guia RELACRE, Nº3, 1996).

A elaboração de cartas de controlo é fundamental no controlo de qualidade interno, e é um meio eficaz de verificar a qualidade dos resultados obtidos e detetar erros. As cartas de controlo de médias ou de indivíduos representam ao longo do tempo um determinado parâmetro, ou uma média, em função do teor de analito. Nestas cartas existe uma linha central (LC) que corresponde à média das leituras efetuadas ou à média dos desvios. Duas linhas de aviso, a inferior e a superior, que se definem a partir da linha central por $LC \pm 2s$ (s representa o desvio padrão da grandeza a ser controlada). Estas linhas avisam o analista que poderá estar numa zona de perigo. As duas linhas de limite superior e inferior de controlo correspondem ao valor de $LC \pm 3s$, sendo que numa situação de controlo estatístico apenas cerca de 0,3% dos resultados saem fora deste intervalo e quando saem significa que há um erro anormal que pode afetar os resultados, sendo assim necessário parar o processo e analisar as causas de erro (Guia RELACRE, Nº9, 1998).

Nas cartas de amplitude ou de amplitude móveis faz-se a representação, ao longo do tempo, da diferença ou amplitude de valores entre os vários ensaios repetidos (dois ou mais) do mesmo material, ou de materiais diferentes, mas dentro de uma determinada gama de concentrações (Guia RELACRE, Nº9, 1998; Miller & Miller, 2005). Nestas cartas, geralmente existem 3 linhas de apoio, a linha central (R) que corresponde à média das leituras efetuadas ou à média dos desvios determinados com pelo menos 10 valores de réplicas. A linha de aviso (LA) corresponde a 2,512 vezes a linha central (R) e a linha de controlo (LC) que corresponde a 3,267 vezes a linha central (R) (Guia RELACRE, Nº9, 1998). A linha de controlo permite aceitar ou rejeitar um valor, se o valor estiver acima da linha de controlo deve-se repetir a análise e, se ao repetir, o valor continuar fora do limite, deve-se rejeitar ou interromper a análise fazendo novamente uma calibração e resolver o problema (Guia RELACRE, Nº9, 1998; Miller & Miller, 2005). Ao analisar a carta, se sete pontos consecutivos se situarem todos acima ou baixo da linha central, deve-se analisar o ponto seguinte, mas se este erro continuar, a análise deve ser interrompida para corrigir o problema. No entanto, se o ponto seguinte quebrar a tendência pode-se continuar a aceitar os resultados da análise. Este tipo de carta de controlo indica a dispersão dos valores, de maneira a conseguir-se controlar a precisão dos resultados.

Associado a cada carta de controlo deve existir um registo apropriado que indique ao operador que a utiliza qual o método de ensaio, equipamento, material utilizado, data da sua elaboração e periodicidade da realização do método de ensaio.

1.4.2 Controlo de Qualidade Externo

O controlo de qualidade externo (CQE) é um programa de controlo externo ao laboratório, que tem por objetivo avaliar a exatidão dos resultados. O CQE pode ser efetuado através de materiais de referência certificados (MRC), ensaios interlaboratoriais, avaliação de desempenho ou rastreabilidade.

Um material de referência certificado (MRC) é um material em que os valores de uma ou mais propriedades foram certificados por um processo tecnicamente válido, e que é acompanhado de um certificado emitido por um organismo de certificação. São materiais que atualmente têm alguma procura, pelo que é importante ter em atenção quais os organismos com reconhecimento e credibilidade para os fornecer. Algumas entidades que preparam MRC são: BCR (Bureau Comunitário de Referência), NIST (National Institute of Standards and Technology), US EPA (Environmental Protection Agency) e US Geological Survey (Guia RELACRE, Nº 3, 1996). O uso correto dos MRC consiste na sua análise para avaliar o desempenho do laboratório nas determinações dos parâmetros, devendo-se comparar o valor obtido na análise de um MRC com o valor do certificado, determinar o erro e a exatidão da análise.

Os ensaios interlaboratoriais são ensaios em que se recebe uma amostra, da qual não é conhecida a concentração, que é analisada pelo laboratório e os resultados são enviados para os organismos detentores do programa externo da qualidade. Deve ser uma participação regular, em que os resultados obtidos pelo laboratório são avaliados, segundo o Guia ISO/CEI 43, e comparados com os de outros laboratórios a nível Nacional e Europeu.

1.5 Legislação para as águas de consumo humano

Na Europa são várias as diretivas relativas a análises de água, nomeadamente a diretiva nº 98/83/CE que refere os critérios e normas de qualidade da água. Em Portugal, a qualidade da água para consumo humano é verificada com base no Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de Agosto, que procedeu à revisão do Decreto-Lei nº 243/2001 de 5 de Setembro, que para além dos aspetos de qualidade, estabelece ainda os princípios de repartição da responsabilidade pela gestão dos sistemas de abastecimento público.

Assim, as normativas em vigor estabelecem o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano, tendo por objetivo proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da eventual contaminação dessa água e assegurar a disponibilização de água salubre, limpa e desejavelmente equilibrada na sua composição desde a estação de tratamento de água (ETA) até às torneiras dos consumidores.

Em Portugal foi criada uma autoridade competente, o Instituto Regulador de Águas e Resíduos (IRAR), responsável pela coordenação da implementação da qualidade para a água de consumo humano (Decreto-Lei nº 306/2007). A legislação implementada em Portugal veio obrigar a que a água destinada ao consumo humano seja salubre e limpa, sendo a entidade gestora responsável por assegurar que a qualidade da água cumpra os valores paramétricos estipulados pela lei e que a aplicação da legislação permita que não haja qualquer deterioração da qualidade da água destinada ao consumo humano de forma a proteger a saúde humana (Decreto-Lei nº 243/2001). De acordo com a legislação em vigor, devem ser disponibilizados trimestralmente ao público os resultados das análises à água de consumo, cabendo à entidade gestora afixar editais nos lugares adequados ou recorrer à sua publicação em jornais regionais. Essa informação sobre os resultados das análises deve ser acompanhada de elementos informativos do grau de cumprimento das normas de qualidade.

O valor paramétrico (VP) veio substituir o Valor Máximo Admissível (VMA) e o Valor Máximo Recomendado (VMR) que constavam de anteriores documentos legislativos. O valor paramétrico é definido como o valor máximo ou mínimo fixado para cada um dos parâmetros a controlar (Decreto-Lei nº 306/2007). Os valores paramétricos são classificados como parâmetros obrigatórios ou indicadores. Dentro dos valores paramétricos obrigatórios, incluem-se os parâmetros químicos e os parâmetros microbiológicos, para os quais os valores das análises não podem ultrapassar os valores indicados no decreto de lei em vigor. No caso dos parâmetros

indicadores, o valor paramétrico deve ser considerado apenas como um valor guia (Decreto-Lei nº 306/2007).

Para uma amostra satisfazer os requisitos de qualidade, os valores da análise têm que ser iguais ou inferiores aos valores paramétricos fixados na legislação em vigor. Sempre que os resultados não sejam conformes, são comunicados pela entidade gestora às autoridades competentes para que se tomem medidas adequadas para reduzir ou eliminar os riscos de incumprimento dos valores paramétricos (Decreto-Lei nº 243/2001).

1.6 Objetivos do trabalho

O presente trabalho foi realizado no âmbito do estágio decorrido no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro, no período compreendido entre outubro de 2010 e maio de 2011.

O Laboratório de Saúde Pública tem como função efetuar a vigilância sanitária a amostras de água de consumo humano, águas de piscinas e alimentos.

Estabeleceram-se como objetivos do estágio, participar nas rotinas diárias realizadas no Laboratório, com destaque para a participação ativa na secção de análises químicas a amostras de águas de consumo humano, para obter experiência na avaliação da qualidade de amostras de água de consumo humano, tendo em consideração a sua origem e a legislação em vigor.

Outro objetivo estabelecido para o estágio, foi o da verificação do controlo de qualidade dos métodos analíticos utilizados para a quantificação, em amostras de águas de consumo humano, dos seguintes parâmetros: nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro.

Capítulo 2

MATERIAIS e MÉTODOS

2.1 Locais de recolha das amostras analisadas

As amostras de água destinadas ao consumo humano analisadas no decorrer do estágio no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro eram provenientes do distrito de Aveiro e tinham diferentes origens: fontes ou fontanários, furos ou poços e rede pública.

O distrito de Aveiro (Figura 2) localiza-se na província da Beira Litoral, limitado a norte pelo distrito do Porto, a leste pelo distrito de Viseu, a sul pelo distrito de Coimbra e a oeste pelo oceano atlântico. É um distrito com uma área de 2808 km² e com uma população residente de 732.867 (dados de 2004 do Governo civil de Aveiro [3]).

Em Aveiro, a Concessionária do Sistema Regional do Carvoeiro, ÁGUAS DO VOUGA, S.A. é responsável pelos sistemas de fornecimento de água. A empresa intervém nas fases de captação, tratamento, elevação, transporte e armazenamento da água e também tem responsabilidade na operação e manutenção das infraestruturas do sistema de abastecimento. Esta empresa é a entidade gestora dos sistemas de abastecimento público dos seguintes concelhos: Albergaria-a-Velha, Estarreja, Aveiro, Águeda, Ílhavo e Murtosa; para os restantes concelhos do distrito as entidades gestoras são as Câmaras Municipais ou serviços Municipalizados, que são responsáveis pelo controlo da qualidade da água que distribuem, ou seja, estão incumbidas de realizar regularmente um conjunto de ações de avaliação da qualidade da água distribuída.



Figura 2 – Mapa do Distrito de Aveiro (retirado de [4]).

Os concelhos do distrito de Aveiro que mais frequentemente entregam amostras no laboratório são: Águeda, Anadia, Oliveira do Bairro, Sever do Vouga, Aveiro, Ílhavo, Vagos, Albergaria-a-Velha, Ovar, Estarreja, Murtosa e Mealhada (pertence a Águas do Mondego).

2.2 Amostras de águas de consumo humano analisadas no laboratório

A recolha e o transporte das amostras para o Laboratório são da responsabilidade dos técnicos de saúde ambiental de cada concelho, uma vez que a Autoridade de Saúde é responsável pelo cumprimento do programa de vigilância sanitária.

As amostras, no caso de ser água fornecida a partir de uma rede de distribuição, são colhidas nas torneiras de água utilizada para consumo humano e, no caso de água fornecida por fontes ou fontanários, poços ou furos são colhidas nos pontos de utilização. As amostras devem ser colhidas em frascos de polietileno, completamente cheios e bem rolhados para evitar entradas de ar e perdas de amostra, devem ser entregues no Laboratório o mais breve possível, ficando acondicionadas a 4°C e protegidas da ação da luz para evitar a degradação das amostras.

Todas as amostras são devidamente identificadas/documentadas, elaborando um boletim analítico, que é transmitido pelo responsável do laboratório à entidade sanitária e que este encaminhará à entidade gestora.

Após a entrega no Laboratório as amostras são analisadas o mais rápido possível. Normalmente não é necessária qualquer preparação, excepto se a amostra tiver partículas em suspensão. Neste caso, deve filtrar-se com filtro isento de matéria contaminante, antes de realizar a análise.

O material utilizado na quantificação dos parâmetros químicos é de vidro, previamente lavado com água da torneira e detergente (LabWash pure ou equivalente) a 3%. Seguidamente é colocado numa solução de ácido clorídrico, HCl a 25% e finalmente é lavado com bastante água destilada. O material é seco em estufa à temperatura < 60°C.

2.3 Parâmetros analisados no Laboratório

Para avaliar a qualidade das águas de consumo humano, os métodos químicos utilizados no Laboratório estão apresentados na Tabela 1 para cada parâmetro.

Tabela 1 - Métodos analíticos usados para determinação dos vários parâmetros químicos.

Parâmetros	Métodos analíticos	Métodos de determinação	Expressão dos resultados
Cor	Comparação visual	SMEWW 2120 B	Escala Pt/Co
Cheiro	Escala de diluição	SMEWW 2150 B	Taxa de diluição
Turvação	Turbidimetria	SMEWW 2130-B	NTU
Cloro	Colorimetria	SMEWW 4500-Cl G	mg/L Cl ₂
pH	Electrometria	SMEWW 4500 H ⁺	Escala Sorënsen
Oxidabilidade	Índice de permanganato	ISO 8467:1993	mg/L O ₂
Condutividade	Condutimetria	SMEWW 2510 B	µS/cm (20°C)
Nitratos	EAM	SMEWW 4500 NO ₃ B	mg/L NO ₃ ⁻
Nitritos	EAM	SMEWW 4500 NO ₂ B	mg/L NO ₂ ⁻
Azoto amoniacal	EAM	"LAE" J.Rodier	mg/L NH ₄ ⁺
Ferro	EAM	SMEWW 3500-Fe B	µg/L Fe
Cloretos	Volumetria	SMEWW 4500- Cl B	mg/L Cl ⁻
Sulfatos	EAM	SMEWW 4500 SO ₄ E	mg/L SO ₄ ²⁻
Dureza	Titrimétrico	"LAE"J.Rodier	mg/L CaCO ₃
Alcalinidade	Titrimétrico	SMEWW 2320 B	mg/L CaCO ₃
Manganês	EAM	"LAE"J.Rodier	µg/L Mn

EAM - Espectrometria de Absorção Molecular

SMEWW - *Standard methods for the examination of water and wastewater* (SMEWW, 2005)

ISO - *International Organization for Standardization*

LAE - *L'analyse de l'eau: eaux naturelles; eaux résiduaires; eau de mer* (Rodier, 1996)

A legislação Portuguesa estabelece que a qualidade da água para consumo humano é caracterizada pelo cumprimento do valor paramétrico para cada parâmetro, sendo este o valor máximo ou mínimo fixado para cada parâmetro a controlar. Estes valores encontram-se apresentados na Tabela 2 para os parâmetros que são normalmente analisados no Laboratório onde foi efetuado o estágio.

Tabela 2 - Valores paramétricos para águas de consumo humano (adaptado do Decreto-Lei nº 306/2007).

	Parâmetro	Valor paramétrico	Unidade
Parâmetros Químicos	Nitratos	50	mg/L NO_3^-
	Nitritos	0,5	mg/L NO_2^-
Parâmetros Indicadores	Azoto amoniacal	0,50	mg/L NH_4^+
	Ferro	200	$\mu\text{g/L Fe}$
	Cor	20	Escala Pt/Co
	Cheiro	3 (25°C)	Taxa de diluição
	Turvação	4	NTU
	pH	$\geq 6,5 \leq 9$	Escala Sorënsen
	Oxidabilidade	5	mg/L O_2
	Condutividade	2500	$\mu\text{S/cm (20}^\circ\text{C)}$
	Cloretos	250	mg/L Cl^-
	Sulfatos	250	mg/L SO_4^{2-}
	Manganês	50	$\mu\text{g/L Mn}$

Para garantir a qualidade da água de consumo humano, é incluído no programa de controlo de qualidade uma frequência mínima de amostragem para águas fornecidas por sistemas de abastecimento públicas, redes de distribuição, fontanários, camiões ou navios cisterna, utilizada em empresas de indústrias alimentares e à venda em garrafas ou outros recipientes. A frequência de amostragem depende do número da população servida e é dividida em controlo de rotina e controlo de inspeção. A Tabela 3 apresenta a frequência mínima de amostragem para

águas de consumo humano para parâmetros sujeitos a controlo de rotina e para parâmetros sujeitos a controlo de inspeção.

Tabela 3 - Frequência mínima de amostragem e de análise da água destinada a consumo (adaptado do Decreto-Lei nº 306/2007).

Tipo de controlo	Parâmetros	Volume de água fornecida na zona de abastecimento (m³/dia)	Nº de amostras por ano
Controlo de rotina	Azoto amoniacal Condutividade Cor Nitratos Nitritos Ferro Cheiro Turvação pH Oxidabilidade Manganês	<100	2
		>100 e ≤1000	4
		>1000	4 + 3 por cada 1000m ³ /dia + 3 por fração remanescente do volume total
Controlo de inspeção	Cloretos Sulfatos	≤1000	1
		>1000 e ≤ 10000	1 + 1 por cada 3300 m ³ /dia + 1 por fração remanescente do volume total
		>10000 e ≤100000	3 + 1 por cada 10000 m ³ /dia + 1 por fração remanescente do volume total
		> 100 000	10 + 1 por cada 25000 m ³ /dia e fração remanescente do volume total

2.4 Métodos analíticos usados pelo laboratório e baseados na espectrometria de absorção molecular – métodos para os quais foi efetuado o controlo de qualidade

A instrumentação utilizada para a análise dos parâmetros por espectroscopia de absorção molecular foi um espectrómetro UV-visível, da Thermo Vision, associado ao programa VISIONpro software V4.10.

De acordo com a Lei de Lambert-Beer, a quantidade de luz absorvida ou transmitida por uma determinada solução depende da concentração do soluto e da espessura da solução. Assim, foram preparadas soluções padrão de concentração conhecida e leram-se as respectivas absorvâncias (y) para estabelecer uma curva de calibração de equação $y = a + bx$, em que a representa a ordenada na origem e b o declive da reta, e a concentração (x) pode ser determinada por interpolação.

Os parâmetros para o qual se efetuou um estudo do controlo analítico no âmbito do estágio foram: azoto amoniacal, nitratos, nitritos e ferro, por serem os parâmetros mais frequentemente analisados em águas de consumo humano no local do estágio. Estes parâmetros dizem respeito a espécies químicas que naturalmente estão presentes na água de consumo humano e não prejudicam o funcionamento normal do organismo, dependendo os efeitos destes das quantidades ingeridas, do tempo de exposição e da sensibilidade do indivíduo.

Para estes parâmetros, a legislação indica que as características de cada método de análise utilizado devem, no mínimo, ser capazes de medir concentrações iguais ao valor paramétrico com a exatidão, a precisão e os limites de detecção indicados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores paramétricos, de exatidão, precisão e limite de detecção, segundo o Decreto-Lei nº 306/2007 para os parâmetros de interesse para este trabalho.

		Valor Paramétrico (VP)	Exatidão (% do VP)	Precisão (% do VP)	Limite de detecção (% do VP)
Parâmetros Químicos	Nitratos	50 mg/L NO_3^-	10	10	10
	Nitritos	0,5 mg/L NO_2^-			
Parâmetros Indicadores	Azoto amoniacal	0,50 mg/L NH_4^+			
	Ferro	200 µg/L Fe			

Nitratos

Os nitratos (NO_3^-) ao aparecerem naturalmente nos solos podem contaminar os lençóis de água. A contaminação da água com nitratos tem-se observado ao longo da metade do último século, devido à utilização de fertilizantes azotados nos solos, provenientes de atividades agrícolas, ou a descargas de águas residuais, industriais e domésticas, emissões de gases com compostos azotados libertados por automóveis, indústrias ou detritos animais e humanos (Mendes & Oliveira, 2004; Ward *et al*, 2005).

Os nitratos, iões que fazem parte do ciclo do azoto, são muito solúveis, por isso fatores como a proximidade ao nível freático, a elevada permeabilidade dos solos e a utilização intensa de adubos conduzem à lixiviação deste nutriente do solo, podendo permanecer muitos anos na água de grandes profundidades ou em águas superficiais.

A toxicidade dos nitratos é principalmente atribuível à sua redução a nitritos e o maior efeito conhecido é a doença designada por metahemoglobinémia, especialmente em crianças e também chamada de doença dos bebés azuis, que reduz o transporte de oxigénio podendo levar à asfixia e causar a morte (Manassaram *et al*, 2010; Nielsen, *et al*, 2008; Ustyugova *et al*, 2002). A formação de nitrosaminas e nitrosamidas, compostos com propriedades cancerígenas que se formam no estômago por reação dos nitratos com aminas e amidas, resultantes das proteínas por hidrólise, relacionam o consumo de água ao aparecimento de alguns cancros, especialmente cancro gástrico e colo-retal (Chang *et al*, 2010; Grinsven *et al*, 2010; Gulis *et al*, 2002). Os nitratos também têm sido associados a diversos problemas de saúde, como hipertensão, problemas no sistema nervoso central, diabetes, problemas reprodutivos, efeitos adversos no trato respiratório e alterações no sistema imunitário (Manassaram *et al*, 2006; Ward *et al*, 2005).

O método analítico para a determinação do teor de nitratos na água baseia-se na leitura da absorvância a 220 nm e a 275 nm, num espectrofotómetro UV-VIS. A matéria orgânica absorve radiação a 220 nm e a 275 nm, mas os nitratos (NO_3^-) não absorvem a 275 nm, pelo que a medição neste comprimento de onda serve para quantificar o valor dos nitratos. Por subtração das absorvâncias obtidas nos dois comprimentos de onda, $A = \lambda_{220} - 2 * \lambda_{275}$ e com base na curva de calibração previamente realizada, determina-se o teor de nitratos na água.

Este método aplica-se à análise de águas de consumo humano por conterem baixos teores de matéria orgânica.

A partir de uma solução padrão de nitratos 100 mg/L NO_3^- prepara-se a calibração com os seguintes padrões (Tabela 5), utilizando água destilada:

Tabela 5 – Concentração das soluções padrão de nitratos (mg/L) usadas para traçar a curva de calibração.

Padrões	1	2	3	4	5	6	7
Concentração da Solução Padrão (mg/L)	0	4	5	6	8	10	12
Volume da Solução Padrão mãe a medir (mL)	0,00	2,00	2,50	3,00	4,00	5,00	6,00

O volume das soluções padrão e das amostras utilizado é de 50,00 mL aos quais se adiciona 1,0 mL de ácido clorídrico (HCl 1M) e depois de devidamente homogeneizadas procede-se à leitura no espectrofotómetro a 220 nm e a 275 nm.

Nitritos

Os teores de nitritos em água são relativamente baixos, não excedendo, em águas de superfície, 1 mg L^{-1} . A ingestão de água contaminada por nitritos é uma fonte de exposição deste nutriente em humanos, mas a principal fonte é o consumo de vegetais (Fan, 2011). Nitritos e nitratos são utilizados como conservantes e agentes anti-microbianos em algumas indústrias de carnes processadas (Fan, 2011). A formação de nitritos pode ter origem biológica, resultante da reação microbiana dos nitratos, ou química, por oxidação do amoníaco proveniente de esterilização e desinfecção das águas por cloraminas, em especial a temperaturas elevadas (Mendes & Oliveira, 2004; Olaoye & Onilude, 2009).

Fontes de poluição por nitritos ocorrem a partir de dejectos humanos, escoamento de águas residuais ou fossas sépticas e também a partir de reações do azoto proveniente de compostos emitidos pela indústria automóvel. O uso intensivo de fertilizantes azotados, sobretudo na agricultura é, tal como para nitratos, uma fonte de contaminação das águas (Fan, 2011).

O ião nitrito (NO_2^-) contem azoto num estado relativamente instável, pelo que na presença de oxigénio rapidamente se converte em nitratos. Em caso de oxigenação reduzida da

água podem detetar-se teores anormais de nitritos, independentemente de qualquer tipo de poluição azotada (Mendes & Oliveira, 2004).

O princípio da técnica de análise de nitritos é a reação do ião nitrito com a sulfanilamida em meio fortemente ácido (pH 2,0-2,5). O método baseia-se na reação de diazotação do 4-aminobenzeno sulfonamida com os nitritos em meio ácido e a junção com o dicloro-hidrato de N-(1-naftil)-1,2-etilenodiamina forma um complexo corado rosa, suscetível de dosagem espectrofotométrica. A leitura é efetuada a um comprimento de onda de 543 nm.

A partir de uma solução padrão de nitritos 100 mg/L NO_2^- prepara-se a calibração com os seguintes padrões (Tabela 6), utilizando água destilada:

Tabela 6 – Concentração das soluções padrão de nitritos (mg/L) usadas para traçar a curva de calibração.

Padrões	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Concentração da Solução Padrão (mg/L)	0	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,1	0,15	0,20
Volume da Solução Padrão mãe a medir (mL)	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	5,00	7,50	10,00

O volume das soluções padrão e das amostras utilizado é de 50,00 mL aos quais se adiciona 1,0 mL do reagente de diazotação, homogeneiza-se e aguarda-se pelo menos 20 minutos antes de efetuar a leitura.

Azoto amoniacal

O azoto molecular (N_2) é o composto gasoso mais abundante na atmosfera terrestre, constituindo cerca de 80% da sua composição. No entanto, é um composto termodinamicamente muito estável, não sendo utilizado diretamente pela grande maioria dos organismos como fonte de azoto. Apenas algumas espécies de procariotas possuem capacidade de fixar o azoto atmosférico. Os restantes seres vivos dependem da disponibilidade de formas combinadas deste elemento (Militão, 2004; Cozzi & Giani, 2000).

Na água o azoto amoniacal encontra-se numa forma combinada, a forma iónica de amoníaco NH_4^+ ou na forma de amoníaco NH_3 , a forma não ionizada. Estes compostos de azoto que normalmente existem na água provêm de processos degradativos de origem natural ou provenientes das atividades do Homem, tais como descargas de águas residuais, domésticas ou industriais e a utilização de fertilizantes azotados nos solos (Mendes & Oliveira, 2004).

No ciclo do azoto ocorrem processos tais como a fixação do azoto atmosférico, a amonificação, a nitrificação, a desnitrificação. Cerca de 90% do azoto é fixado biologicamente (Militão, 2004).

As principais fontes antropogénicas de poluição por azoto estão relacionadas com a aplicação de fertilizantes, produção de resíduos ou queima de combustíveis fósseis. Num estudo efetuado na China verificou-se que, devido ao uso excessivo de fertilizantes, existiam alterações no ciclo biogeoquímico do azoto, ou seja, excesso de compostos azotados que ficavam depositados em águas superficiais e subterrâneas, degradando assim a qualidade da água (Chen *et al.*, 2008).

O azoto amoniacal, em águas superficiais cujo pH se situa entre 6,5 e 8,5, encontra-se principalmente na forma ionizada, NH_4^+ , e é pouco tóxico; no entanto a formação de amoníaco origina processos de toxicidade grave para peixes. O amoníaco pode causar efeitos nefastos nos tratamentos de desinfecção quando reage com o cloro livre disponível e promove a formação de cloraminas e outros compostos organoclorados, com propriedades cancerígenas, que consequentemente são prejudiciais à saúde dos consumidores (Mendes & Oliveira, 2004).

Para determinar o azoto amoniacal, a quantificação é efectuada em meio alcalino e na presença de nitroprussiato, que atua como catalisador. O amoníaco é tratado com uma solução de hipoclorito de sódio e fenol, aparecendo uma cor azul suscetível de dosagem colorimétrica efectuada a 640 nm (Rodier, 1996).

A partir de uma solução padrão de 1000 mg/L prepara-se a calibração com os seguintes padrões (Tabela 7), utilizando água destilada:

Tabela 7 – Concentração das soluções padrão de azoto amoniacal (mg/L) usadas para traçar a curva de calibração.

Padrões	1	2	3	4	5	6	7
Concentração da Solução Padrão (mg/L)	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Volume da Solução Padrão mãe a medir (mL)	0,00	0,50	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00

O volume das soluções padrão e das amostras utilizado é de 50,00 mL aos quais se adiciona 2,0 mL de solução alcoólica de fenol, 2,0 mL de solução de nitroprussiato e 5,0 mL de solução oxidante (mistura da solução de citrato de sódio com solução de hipoclorito de sódio). Após homogeneizar, aguarda-se 1 hora ao abrigo da luz antes de efetuar a leitura (para evitar a degradação fotoquímica).

Ferro

O ferro é um metal e um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre. É essencial à vida de animais e plantas. O metal puro é quimicamente muito reativo, principalmente em presença de ar, mas comumente encontra-se combinado com carbono. É muito utilizado pelo homem na metalurgia e em muitas outras indústrias químicas. Encontra-se em rochas (ultramagmáticas, basalto, argila, xisto), minérios (hematite, siderite, magnetite, limonite, pirite), solo, oceanos e plantas (Mendes & Oliveira, 2004; Zuane, 1990).

Pode-se encontrar nas águas sob diversas formas. A pH compreendido entre 4,5 e 9, o ferro encontra-se na forma ferrosa e é solúvel na água, precipita com o anidrido carbónico e oxida com o ar. O ferro férrico apenas é solúvel a pH inferior a cinco. As águas superficiais raramente têm mais do que 1 mg/L. Sob a ação do ar ou por adição de cloro, o ferro é oxidado ao estado férrico e pode ser hidrolisado para dar um hidróxido de ferro insolúvel. É geralmente nesta forma que se encontra na água (Mendes & Oliveira, 2004; Zuane, 1990).

As águas naturais contêm geralmente pouco ferro e a sua presença pode ser resultado da lixiviação dos solos ou da poluição industrial (indústria metalúrgica). O ferro pode ainda estar presente na água como resultado da corrosão de canalizações metálicas ou pela utilização de sais

de ferro como agentes de coagulação/floculação na potabilidade de águas brutas (Mendes & Oliveira, 2004).

É um elemento nutricional essencial para o Homem e as necessidades dependem da idade, do sexo, do estado fisiológico, da biodisponibilidade do ferro. Na água de consumo, a concentração de ferro de um modo geral é inferior a 300 µg/L, pelo que a ingestão através dos alimentos constitui a principal fonte de ferro para o homem, em que a dose diária recomendada deste elemento deve ser 14 mg/dia (Mendes & Oliveira, 2004). O ferro faz parte da molécula da hemoglobina, de algumas ferroproteínas essenciais à vida e é componente essencial de sistemas de oxidação biológica. A sua deficiência pode levar a anemias, mas o seu excesso pode tornar-se tóxico com efeitos mutagénicos ou carcinogénicos (Mendes & Oliveira, 2004; Zuane, 1990).

As águas subterrâneas, se anaeróbias, podem conter ferro ferroso em concentrações que atingem muitas mg/L, sem que se note uma coloração ou turvação. Contudo, quando exposto ao ar, o ferro ferroso oxida-se em ferro férrico que dá a tonalidade castanha à água. O ferro favorece o crescimento de ferrobactérias que gastam a energia na oxidação do ião ferroso em ião férrico e deixam um depósito viscoso nas paredes das canalizações, promove o crescimento bacteriano, levando ao aumento do teor de microrganismos (em particular da *E. Coli*) e consequentemente à degradação da qualidade microbiológica da água (Mendes & Oliveira, 2004).

Para quantificar o ferro na água, utiliza-se o método da fenantrolina. O cloridrato de hidroxilamina reduz o ferro(III) a ferro(II). Este combina-se com a 1,10-fenantrolina formando um complexo vermelho. A intensidade de coloração é proporcional à quantidade de ferro(II) e determina-se medindo as absorvâncias ao comprimento de onda de 510 nm.

A partir de uma solução padrão de 1000 mg/L prepara-se a calibração com os seguintes padrões (Tabela 8), utilizando água destilada:

Tabela 8 – Concentração das soluções padrão de ferro (µg/L) usadas para traçar a curva de calibração.

Padrões	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentração da Solução Padrão (µg/L)	0	20	100	200	300	400	500	800
Volume da Solução Padrão mãe a medir (mL)	0	0,10	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50	4,00

O volume das soluções padrão e das amostras utilizado é de 50,00 mL aos quais se adiciona 1,0 mL de solução cloridrato de hidroxilamina (a 10%), 2,0 mL de solução tampão de acetato, para manter a solução a pH entre 2 a 9 (para manter o complexo estável) e 2,0 mL de solução 1,10-fenantrolina. Após homogeneizar, aguarda-se 15 minutos ao abrigo da luz antes de efetuar a leitura.

2.5 Controlo de qualidade dos resultados

Na secção de química das águas do laboratório onde foi realizado o estágio, em cada sessão de análise de amostras, verifica-se a qualidade analítica através da leitura de um branco no início e no fim de cada conjunto diário de amostras, três padrões (padrão mais baixo, intermédio e mais alto) no início do trabalho e do padrão intermédio de 10 em 10 amostras, verificando os valores através de cartas de controlo; efetua-se ainda a análise de duplicados de 20 em 20 amostras e no final de cada conjunto de amostras e fazem-se testes de recuperação em amostras.

O controlo de qualidade externo é realizado no Laboratório de Saúde Pública através de ensaios interlaboratoriais da RELACRE - Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal; os resultados obtidos pelo laboratório no âmbito destes ensaios não foram cedidos para apresentação no presente trabalho.

2.6 Avaliação da qualidade das águas de consumo humano

Para efetuar uma apreciação global da qualidade das águas de consumo humano analisadas no âmbito do estágio, consideraram-se 359 amostras. Os resultados foram organizados numa base de dados e transferidos para a base de dados do programa SPSS versão 16.0 para efetuar o tratamento estatístico. Foram separadas águas tratadas e não tratadas e diferentes locais de recolha, para efetuar a classificação das águas de consumo humano no distrito de Aveiro.

Capítulo 3

RESULTADOS e DISCUSSÃO

3.1 Controlo de qualidade dos resultados

Nesta parte do trabalho serão apresentados e discutidos os resultados da análise do controlo de qualidade efetuado a alguns métodos analíticos utilizados na análise de água de consumo humano pelo Laboratório de Saúde Pública de Aveiro. Este estudo foi realizado de acordo com a bibliografia apresentada na secção 1.4.1 *Controlo de Qualidade Interno*.

Os parâmetros para os quais se efetuou o estudo do controlo de qualidade foram: nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro, utilizando nas análises um equipamento de espectrofotometria de UV-visível.

3.1.1 Calibração

Apresentam-se de seguida os resultados do controlo de qualidade para a quantificação de nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro em águas de consumo humano. Muitas das vezes são exemplificados os cálculos para o caso dos nitratos e apresentados os valores obtidos para os outros parâmetros.

Para obter a reta de calibração, foi preparada uma gama de padrões para os quais se obtiveram os valores de intensidade do sinal, respetivos desvios padrão e intervalos de confiança apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Intensidade do sinal em função da concentração de nitratos, desvio padrão e intervalo de confiança do sinal.

	Concentração mg/L	Intensidade 1	Intensidade 2	Média da intensidade (\bar{y})	Desvio padrão	Intervalo de confiança (95%)
P0	0,0	0,000	0,000	0,000	-	-
P1	4,0	0,218	0,223	0,221	3,5E-03	4,9E-03
P2	5,0	0,282	0,283	0,283	7,1E-04	9,8E-04
P3	6,0	0,335	0,336	0,336	7,1E-04	9,8E-04
P4	8,0	0,455	0,458	0,456	2,1E-03	2,9E-03
P5	10,0	0,560	0,562	0,561	1,4E-03	1,9E-03
P6	12,0	0,675	0,678	0,676	2,1E-03	2,9E-03

Para o padrão P0 a intensidade do sinal foi igual nas duas leituras, não havendo por isso desvio da média das intensidades nem intervalo de confiança.

Antes de efetuar a curva de calibração, aplica-se previamente o teste t para verificar se os pontos pertencem à reta de calibração. Na Tabela 10 são apresentados os valores necessários para efetuar o teste e respetiva decisão.

Tabela 10 – Teste t (teste de hipóteses) para decisão de pontos pertencentes à reta de calibração.

Concentração (mg/L)	\bar{y}	$\bar{y} - y_{\text{estimado}}$	Desvio padrão	Teste t	Decisão
0,0	0,000	9,25E-04	0,0E+00	-	O ponto pertence à reta
4,0	0,221	-3,81E-03	3,5E-03	-1,52	O ponto pertence à reta
5,0	0,283	1,76E-03	7,1E-04	3,52	O ponto pertence à reta
6,0	0,336	-1,67E-03	7,1E-04	-3,34	O ponto pertence à reta
8,0	0,456	5,46E-03	2,1E-03	3,64	O ponto pertence à reta
10,0	0,561	-2,40E-03	1,4E-03	-2,40	O ponto pertence à reta
12,0	0,676	-2,69E-04	2,1E-03	-0,18	O ponto pertence à reta

Pelo teste t verifica-se que todos os pontos pertencem à reta de calibração, pois todos os valores de $t_{\text{calculado}}$ são inferiores ao módulo do valor de t_{tabelado} (12,71) para $n-1$ leituras efetuadas, com um intervalo de confiança a 95%.

A Figura 3 apresenta a reta de calibração determinada com todos os pontos referidos.

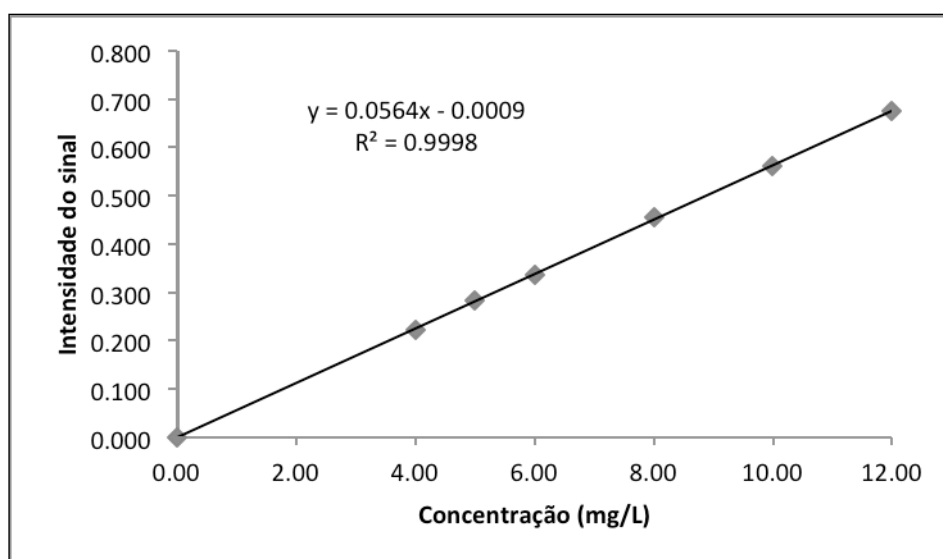


Figura 3 – Reta de calibração para análise de nitratos.

Na Tabela 11 são apresentados os parâmetros da reta de calibração para os nitratos.

Tabela 11 – Parâmetros da reta de calibração.

Declive (<i>b</i>)	0,0564 ± 8E-04
Ordenada na origem (<i>a</i>)	-9,2E-04 ± 6,57E-03
<i>r</i>²	0,99981 > 0,995
Sensibilidade	0,0564 mg/L
<i>S</i>_{y/x}	3,39E-03
<i>S</i>_b	3,46E-04
<i>S</i>_a	2,57E-03

O quadrado do coeficiente de correlação obtido para a reta de calibração apresentada, tal como para todas as retas efetuadas ao longo do trabalho, é superior a 0.995. Nesta situação, considera-se que existe linearidade e a reta de calibração é uma boa representação do sinal em função da concentração dos padrões. Isto é comprovado também pelo gráfico dos resíduos, apresentado na Figura 4, onde se verifica que não há nenhuma tendência na variabilidade dos resíduos ao longo da reta. Para os parâmetros nitritos, azoto amoniacal e ferro também se verificou que não há tendências dos padrões para um sentido.

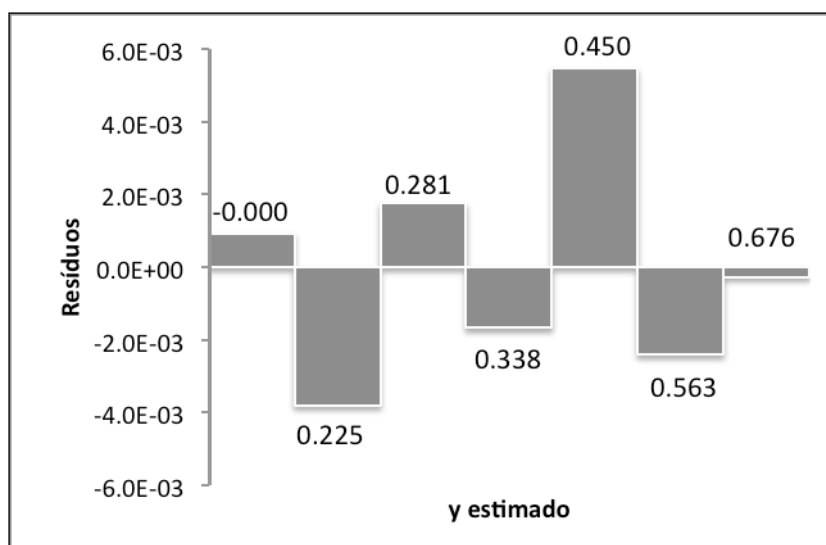


Figura 4 – Gráfico dos resíduos da reta de calibração dos nitratos.

A linearidade de uma reta de calibração pode ser avaliada pela determinação do valor *PG* comparando-o com o valor *F* _{tabelado}. Se o valor *PG* for inferior ao valor *F* _{tabelado} verifica-se que o método tem capacidade para gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do

analito em toda a gama de padrões. A Tabela 12 apresenta os valores do teste, onde se verifica que a função de calibração é linear para a análise de nitratos.

Tabela 12 – Teste F para verificar a linearidade da curva de calibração.

PG=	-3,981
F=	5,591
PG ≤ F	
-3,990 < 5,591	

A linearidade para os métodos de análise de nitritos, azoto amoniacal e ferro também foi comprovada através do cálculo do teste F .

Para avaliar a correlação linear entre os valores obtidos, também foi aplicado o teste t , através da seguinte equação:

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

$t_{calculado}$	158,08
$t_{tabelado}$ (95%)	2,57

Uma vez que o valor de $t_{calculado} > t_{tabelado}$, conclui-se, com um grau de confiança de 95%, que os resultados apresentam boa correlação linear. Para todos os restantes parâmetros estudados também se verificou uma boa correlação linear.

Gama de trabalho

O teste de homogeneidade de variâncias permite avaliar a adequabilidade da gama de trabalho que garante que o método dos mínimos quadrados é aplicado. Os valores das dez réplicas independentes do padrão mais baixo e do padrão mais alto de nitrato são apresentados na Tabela 13. Se o valor calculado de PG for igual ou inferior a F de Ficher para $n-1$ graus de liberdade, considera-se que a diferença entre as variâncias não é significativa e a gama de trabalho está bem ajustada; no entanto se PG for superior a F , a diferença entre as variâncias é

significativa e a gama de trabalho deve ser reduzida até que a diferença entre as variâncias relativas ao primeiro e último padrão permitam obter $PG \leq F$.

Tabela 13 – Intensidades lidas para o padrão mais baixo e mais alto da gama de trabalho dos nitratos.

Leitura	Padrão mais baixo (mg/L)	Padrão mais alto (mg/L)
1	0,217	0,649
2	0,222	0,671
3	0,222	0,670
4	0,222	0,670
5	0,223	0,671
6	0,208	0,655
7	0,223	0,666
8	0,223	0,666
9	0,223	0,667
10	0,223	0,667
S^2	2,24E-05	5,78E-05
PG	2,576 \leq 5,35	

Para a gama de trabalho dos padrões de nitratos, o valor de PG é inferior ao F tabelado pelo que se conclui que a diferença entre as variâncias não é significativa e que a gama de concentrações de trabalho está bem ajustada.

O teste de homogeneidade de variâncias para os restantes parâmetros em estudo, permitiu obter os valores de PG apresentados na Tabela 14, onde se verifica que a gama de concentração dos padrões de calibração está ajustada apenas para o método de análise de nitratos. Para os nitritos, azoto amoniacal e ferro as gamas de calibração não se verificaram ajustadas, pelo que esta deveria ser reduzida até se verificar homogeneidade de variâncias.

Tabela 14 – Teste PG para verificar o ajuste da gama de concentração dos padrões utilizados nos parâmetros estudados.

Parâmetro	Valor PG	F	Ajuste	
Nitratos	2,576	5,35	2,576 \leq 5,35	Gama ajustada
Nitritos	29,884		29,884 > 5,35	Gama não ajustada
Azoto amoniacal	10,799		10,799 > 5,35	Gama não ajustada
Ferro	18,969		18,969 > 5,35	Gama não ajustada

Nos métodos analíticos em que a variância não é uniforme em toda a gama de concentrações porque se utilizam gamas muito alargadas de concentração, existe a possibilidade de ajustar a gama através de uma calibração pesada. Neste caso, aplica-se um fator de peso associado ao grau de confiança que se tem nas estimativas do sinal, ou seja, um peso inversamente proporcional à variância correspondente ao sinal. Para este trabalho a calibração ponderada não foi realizada.

Limites de detecção, de quantificação e coeficiente de variação do método

Os limiares analíticos foram determinados para todas as retas de calibração efetuadas através dos valores dos parâmetros de cada reta. Para a reta de calibração dos nitratos, apresenta-se na Tabela 15 o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) determinados.

Tabela 15 – Limiares analíticos para os nitratos.	
LD = $(3,3 \cdot S_{y/x})/b$	0,179 mg/L
LQ = $(10 \cdot S_{y/x})/b$	0,598 mg/L

Os limites de detecção determinados para todas as retas de calibração efetuadas para o método de análise de nitratos, resultaram em valores sempre inferiores a 5,0 mg/L, ou seja, 10% do valor paramétrico legislado para a concentração de nitratos em águas de consumo humano (50 mg/L NO₃), cumprindo assim a legislação imposta relativamente a este parâmetro. Os limiares analíticos das retas de calibração para os nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro são apresentados nas Tabelas 16, 17, 18 e 19, respetivamente.

O cálculo do desvio padrão do método (S_m) permite verificar a qualidade do trabalho e calcula-se através da seguinte expressão:

$$S_m = \frac{S_{y/x}}{b}$$

O coeficiente de variação do método, expresso em percentagem é dado por:

$$CV_m = \frac{S_m}{\bar{x}} \times 100$$

Os valores obtidos para os nitratos foram:

S_m	0,060
CV_m	0,93%

O coeficiente de variação do método cumpre o imposto pela legislação, com um valor inferior a 10%.

Parâmetros da reta de calibração

Para todas as retas de calibração foram calculados os seguintes parâmetros: declive, ordenada na origem e respectivos intervalos de confiança, coeficiente de correlação, limite de detecção, limite de quantificação e coeficiente de variação do método. As Tabelas 16, 17, 18 e 19 apresentam os parâmetros determinados para cada reta de calibração respetivamente para os nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro.

Tabela 16 – Parâmetros das retas de calibração calculados para a determinação de nitratos.

Retas	Declive b	IC (95%)	Ordenada na origem a	IC (95%)	r^2	LD (mg/L NO ₃)	LQ (mg/L NO ₃)	CV _m (%)
1	0,0559	3E-04	-1,15E-03	2,01E-03	0,99998	0,055	0,184	0,29
2	0,0557	8E-04	-8,66E-03	6,24E-03	0,99983	0,172	0,575	0,92
3	0,0541	1,1E-03	-6,06E-03	8,23E-03	0,99968	0,234	0,781	1,24
4	0,0565	8E-04	-2,12E-03	5,92E-03	0,99985	0,161	0,538	0,84
5	0,0555	3E-04	-2,08E-03	2,33E-03	0,99998	0,065	0,216	0,34
6	0,0585	1,8E-03	4,2E-03	1,34E-02	0,99928	0,351	1,171	1,80
7	0,0587	1,4E-03	2,6E-03	1,01E-02	0,99959	0,266	0,886	1,37
8	0,0555	3E-04	-1,50E-03	2,04E-03	0,99998	0,057	0,189	0,29
9	0,0564	9E-04	-9,2E-04	6,57E-03	0,99981	0,179	0,598	0,93
10	0,0566	7E-04	-3,27E-03	5,19E-03	0,99985	0,141	0,470	0,74
11	0,0570	1,5E-03	3,3E-03	1,08E-02	0,99950	0,292	0,974	1,50
12	0,0585	1,2E-03	3,51E-03	9,21E-03	0,99966	0,242	0,808	1,24
13	0,0560	3E-04	-2,21E-03	2,03E-03	0,99998	0,056	0,186	0,29
14	0,0587	1,2E-03	3,16E-03	9,19E-03	0,99966	0,241	0,804	1,24
15	0,0552	1,3E-03	1,11E-03	9,36E-03	0,99960	0,261	0,870	1,35
16	0,0584	1,6E-03	-9,9E-03	1,18E-02	0,99944	0,311	1,036	1,65
17	0,0585	1,7E-03	3,4E-03	1,23E-02	0,99939	0,323	1,078	1,66
18	0,0603	1,6E-03	-4,61E-02	1,18E-02	0,99947	0,302	1,007	1,78
19	0,0544	1,2E-03	-3,61E-03	8,88E-03	0,99963	0,251	0,838	1,32
20	0,0558	8E-04	-5,54E-03	5,86E-03	0,99985	0,162	0,539	0,85
21	0,0570	1,0E-03	-6,4E-04	7,71E-03	0,99975	0,209	0,696	1,08
22	0,0566	1,1E-03	-3,62E-03	8,27E-03	0,99971	0,225	0,750	1,18
23	0,0568	9E-04	-4,17E-03	7,08E-03	0,99979	0,192	0,640	1,01
24	0,0561	1,3E-03	-6,60E-03	9,67E-03	0,99959	0,265	0,885	1,40
25	0,0583	1,9E-03	-1,15E-02	1,40E-02	0,99921	0,369	1,230	1,97
26	0,0571	1,6E-03	4,3E-03	1,22E-02	0,99937	0,330	1,099	1,69

Tabela 17 – Parâmetros das retas de calibração calculados para a determinação de nitritos.

Retas	Declive <i>b</i>	IC (95%)	Ordenada na origem <i>a</i>	IC (95%)	r^2	LD (mg/L NO ₂)	LQ (mg/L NO ₂)	CV _m (%)
1	0,9429	4,82E-02	-1,09E-03	4,49E-03	0,99996	0,012	0,039	5,70
2	1,1473	5,09E-02	6E-05	4,74E-03	0,99987	0,010	0,034	5,02
3	1,0108	4,38E-02	-6,0E-04	4,08E-03	0,99959	0,010	0,033	4,43
4	0,9818	4,46E-02	-5,1E-04	4,16E-03	0,99990	0,010	0,034	5,17
5	1,0166	4,43E-02	-1,44E-03	4,13E-03	0,99971	0,010	0,033	4,93
6	0,9904	4,99E-02	-8,1E-04	4,65E-03	0,99987	0,011	0,038	5,73
7	0,9753	5,06E-02	9E-05	4,71E-03	0,99997	0,012	0,039	5,90
8	0,9750	4,47E-02	-1,39E-03	4,16E-03	0,99982	0,010	0,035	5,21
9	1,0973	5,24E-02	-8,0E-04	4,88E-03	0,99981	0,011	0,036	5,43
10	1,1455	6,58E-02	1,8E-04	6,13E-03	0,99986	0,013	0,044	6,54
11	1,1019	5,42E-02	-3,5E-04	5,05E-03	0,99993	0,011	0,037	5,60
12	1,0109	5,37E-02	-2,61E-03	5,00E-03	0,99937	0,012	0,040	6,04
13	1,0019	5,20E-02	-8,7E-04	4,84E-03	0,99986	0,012	0,039	5,90
14	1,4056	8,97E-02	-1,60E-03	8,35E-03	0,99933	0,015	0,048	7,23
15	0,9949	4,86E-02	-1,1E-04	4,52E-03	0,99997	0,011	0,037	5,53
16	0,9560	4,72E-02	1,6E-04	4,40E-03	0,99995	0,011	0,037	5,59
17	0,9780	5,09E-02	-9E-05	4,74E-03	0,99990	0,012	0,039	5,89
18	0,8103	4,20E-02	-6,0E-04	3,91E-03	0,99960	0,012	0,039	5,86
19	0,9740	4,81E-02	-4,9E-04	4,48E-03	0,99989	0,011	0,037	5,59
20	1,1042	4,74E-02	1,05E-03	4,41E-03	0,99989	0,010	0,033	4,85
21	1,0231	4,87E-02	-3,2E-04	4,53E-03	0,99992	0,011	0,036	5,39
22	0,9722	4,60E-02	3,0E-04	4,28E-03	0,99998	0,011	0,036	5,35
23	1,0432	5,20E-02	-5,4E-04	4,84E-03	0,99987	0,011	0,038	5,64
24	0,9782	4,99E-02	-2,1E-04	4,64E-03	0,99995	0,012	0,039	5,77

Tabela 18 – Parâmetros das retas de calibração calculados para a determinação de azoto amoniacal.

Retas	Declive b	IC (95%)	Ordenada na origem a	IC (95%)	r^2	LD (mg/L NH_4)	LQ (mg/L NH_4)	CV_m (%)
1	1,193	8,9E-02	-2,21E-02	4,99E-02	0,9958	0,080	0,265	5,98
2	0,634	4,6E-02	1,91E-02	2,61E-02	0,9960	0,078	0,260	5,88
3	1,135	1,9E-02	-10E-04	1,07E-02	0,9998	0,018	0,060	1,34
4	1,134	5,4E-02	7,8E-03	3,02E-02	0,9983	0,051	0,169	3,81
5	1,136	2,9E-02	-2,0E-03	1,62E-02	0,9985	0,027	0,090	2,04
6	1,206	3,9E-02	1,56E-02	2,16E-02	0,9992	0,034	0,114	2,57
7	1,239	1,6E-02	-2,62E-03	9,11E-03	0,9999	0,014	0,047	1,05
8	1,196	9,4E-02	-9,8E-03	5,28E-02	0,9953	0,083	0,280	6,31
9	1,135	1,7E-02	-7,61E-03	9,43E-03	0,9998	0,016	0,053	1,19
10	1,240	8,9E-02	-3,30E-02	5,01E-02	0,9961	0,077	0,256	5,78
11	1,290	7,9E-02	2,03E-02	4,45E-02	0,9972	0,066	0,219	4,93
12	1,286	7,8E-02	5,3E-03	4,39E-02	0,9972	0,065	0,216	4,88
13	0,704	3,3E-02	-1,19E-02	1,86E-02	0,9983	0,050	0,168	3,78
14	1,254	4,9E-02	3,2E-03	2,80E-02	0,9988	0,042	0,140	3,17
15	1,137	1,7E-02	-2,3E-04	9,73E-03	0,9998	0,016	0,054	1,22
16	1,196	3,4E-02	-1,15E-02	1,88E-02	0,9994	0,030	0,099	2,24
17	1,239	1,6E-02	-2,62E-02	9,1E-03	0,9999	0,014	0,047	1,05
18	0,761	5,6E-02	-1,22E-02	3,12E-02	0,9960	0,078	0,260	5,87
19	1,095	5,5E-02	-4,1E-03	3,08E-02	0,9981	0,053	0,178	4,02
20	1,144	4,7E-02	6,0E-03	2,66E-02	0,9987	0,044	0,147	3,32
21	1,171	8,7E-02	-7,2E-03	4,87E-02	0,9959	0,079	0,264	5,95
22	1,050	6,1E-02	-3,26E-02	3,41E-02	0,9975	0,062	0,206	4,65

Tabela 19 – Parâmetros das retas de calibração calculados para a determinação de ferro.

Retas	Declive <i>b</i>	IC (95%)	Ordenada na origem <i>a</i>	IC (95%)	r^2	LD (mg/L NO ₃)	LQ (mg/L NO ₃)	CV _m (%)
1	1,82E-04	2E-06	1,47E-04	7,55E-04	0,99990	9,04	30,13	1,04
2	1,83E-04	2E-06	-5,52E-04	6,17E-04	0,99993	7,36	24,52	0,85
3	1,82E-04	2E-06	-7,33E-04	6,39E-04	0,99993	7,65	25,49	0,88
4	1,85E-04	5E-06	-1,40E-03	1,91E-03	0,99977	22,54	75,13	2,66
5	1,83E-04	3E-06	-4,8E-04	1,13E-03	0,99935	13,40	44,66	1,54
6	1,84E-04	4E-06	7,7E-04	1,39E-03	0,99977	16,44	54,81	1,86
7	1,82E-04	3E-06	-5,5E-04	1,27E-03	0,99965	15,22	50,74	1,77
8	1,82E-04	2E-06	3,37E-04	8,37E-04	0,99970	9,99	33,29	1,14
9	1,83E-04	2E-06	-7,7E-05	8,03E-04	0,99987	9,57	31,90	1,10
10	2,28E-04	5E-06	-5,1E-04	1,88E-03	0,99988	17,90	59,68	2,07
11	1,86E-04	3E-06	-4,9E-04	1,25E-03	0,99959	14,64	48,81	1,70
12	2,29E-04	9E-07	2,71E-04	3,45E-04	0,99972	3,29	10,96	0,38
13	1,81E-04	2E-06	-1,63E-03	9,7E-04	0,99999	11,61	38,71	1,38
14	1,85E-04	4E-06	-1,92E-03	1,51E-03	0,99983	17,71	59,05	2,11
15	1,82E-04	3E-06	-1,01E-03	1,36E-03	0,99960	16,22	54,05	1,90
16	1,81E-04	1E-06	1,40E-04	4,72E-04	0,99966	5,67	18,89	0,65
17	1,82E-04	2E-06	3,37E-04	8,37E-04	0,99996	9,99	33,29	1,14
18	1,84E-04	4E-06	-1,88E-03	1,71E-03	0,99987	20,31	67,69	2,42
19	1,82E-04	3E-06	3E-05	1,13E-03	0,99947	13,58	45,26	1,56
20	1,85E-04	6E-06	-4,4E-04	2,18E-03	0,99976	25,58	85,27	2,96
21	1,82E-04	4E-06	-1,5E-04	1,61E-03	0,99916	19,28	64,25	2,22
22	1,84E-04	4E-06	-7,5E-04	1,63E-03	0,99952	19,26	64,20	2,25

Pela análise dos parâmetros das retas de calibração, verifica-se que todas as retas têm valores do quadrado do coeficiente de correlação superiores a 0.995, que é um critério interno do Laboratório para aceitação de retas para todos os métodos analíticos.

Para a análise dos valores dos limites de detecção obtidos, considera-se o Decreto-lei nº 306/2007 que indica que os métodos utilizados devem, no mínimo, ser capazes de medir concentrações iguais a 10% do valor paramétrico. Para tal, os limites de detecção de nitratos devem ser inferiores a 5 mg/L NO₃, para os nitritos e azoto amoniacal devem ser inferiores a 0,05 mg/L e para ferro inferiores a 20 µg/L. Este critério verifica-se para os valores de limite de detecção de nitratos e nitritos, mas para a análise de azoto amoniacal e ferro, observam-se valores superiores a 10% do respetivo valor paramétrico.

3.1.2 Avaliação de duplicados

A análise de amostras em duplicado, enquanto ação de controlo de qualidade interno, é encarada como uma ferramenta de detecção de erros acidentais, mas não garante que o resultado final tenha um menor erro, pois se houver erros sistemáticos, ambos os duplicados serão afetados.

Nas Tabelas 20 e 21 são apresentados os valores de concentração de amostras analisadas em duplicado e as diferenças relativas, respetivamente para nitratos (mg/L NO₃) e ferro (µg/L Fe). Para os iões nitrito e azoto amoniacal não foi possível a avaliação dos valores de duplicados, uma vez que não se receberam amostras de água de consumo humano com concentrações possíveis de quantificação.

Tabela 20 – Avaliação de duplicados em amostras analisadas para nitratos (mg/L).

Amostras	Duplicados		Diferença absoluta	Média \bar{x}	Diferença relativa (%)
	1	2			
1	7,52	7,63	0,11	7,58	1,45
2	7,58	7,52	-0,06	7,55	0,79
3	18,44	18,44	0,00	18,44	0,00
4	4,99	4,98	-0,01	4,99	0,20
5	6,80	6,27	-0,53	6,54	8,11
6	26,82	27,15	0,33	26,99	1,22
7	5,57	5,55	-0,02	5,56	0,36
8	14,01	13,19	-0,82	13,60	6,03
9	13,13	13,35	0,22	13,24	1,66
10	41,15	41,35	0,20	41,25	0,48
11	5,40	5,25	-0,15	5,33	2,82
12	13,60	13,71	0,11	13,66	0,81

Tabela 21 – Avaliação de duplicados em amostras analisadas para ferro (µg/L).

Amostras	Duplicados		Diferença absoluta	Média \bar{x}	Diferença relativa (%)
	1	2			
1	108,3	108,5	0,09	108,4	0,08
2	98,9	99,2	0,36	99,0	0,36
3	102,5	105,1	2,56	103,8	2,46
4	105,1	104,8	-0,24	104,9	0,23
5	101,0	101,7	0,66	101,4	0,65
6	105,0	107,0	2,01	106,0	1,89
7	100,1	101,7	1,62	100,9	1,61
8	105,2	103,6	-1,59	104,4	1,52
9	100,1	99,5	-0,62	99,8	0,62
10	101,7	102,7	1,08	102,2	1,05
11	99,9	100,6	0,70	100,3	0,70
12	103,6	102,1	-1,47	102,8	1,42

Pela observação da diferença relativa entre as duas análises da mesma amostra, verifica-se que os valores obtidos são inferiores a 10%, o que é considerado aceitável no Laboratório. Esta avaliação é particularmente indicada para análises com vários passos no procedimento como possíveis fontes de erros, sendo portanto adequada para muitas das metodologias utilizadas no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro. O guia da RELACRE (Guia RELACRE Nº3, 1996) para validação de resultados em laboratórios químicos recomenda que uma parcela entre 5 a 10% do total de análises seja analisada em duplicado.

3.1.3 Testes de recuperação

Os testes de recuperação consistem na adição de uma quantidade conhecida de uma determinada solução padrão, a diferentes amostras, verificando-se a capacidade de recuperação do analito presente nessa amostra. É um teste que avalia as interferências do método e de matriz e é considerado específico e seletivo; a taxa de recuperação deve ser próxima de 100%.

Nas Tabelas 22 e 23 são apresentados os valores de recuperação determinados em amostras analisadas para nitratos e ferro, respetivamente. Para os outros parâmetros em estudo, não foi possível efetuar esta determinação por não existirem amostras com concentrações detectáveis de determinando.

Tabela 22 – Percentagem de recuperação para nitratos.

Concentração da amostra (mg/L)	7,26	6,34	7,61	5,41	5,58
Concentração da amostra mais padrão 4,0 mg/L (mg/L)	11,43	10,15	11,45	9,33	9,72
Recuperação (%)	104,3	95,4	95,9	98,2	103,5

Tabela 23 – Percentagem dos testes de recuperação para ferro.

Concentração da amostra (µg/L)	74,76	73,14	89,39	45,42	88,34
Concentração da amostra mais padrão 20 µg/L (µg/L)	87,40	91,97	112,94	66,32	110,23
Recuperação (%)	63,2	94,2	117,8	104,5	109,5

O critério interno do Laboratório para aceitação dos valores obtidos é que o intervalo de percentagem esteja entre 80 a 120%. Observando os resultados obtidos, verifica-se que para os nitratos todos os valores estão dentro deste intervalo, indicando que não há interferências relevantes. Para o ferro, os valores obtidos também ficaram dentro do intervalo pretendido, exceto um valor com uma taxa de recuperação de 63,2%, que indica a presença de interferências ou erro na preparação da amostra.

3.1.4 Cartas de controlo

As cartas de controlo são uma ferramenta muito útil e eficiente para exercer e visualizar um controlo contínuo sobre os resultados produzidos; através das cartas é possível detetar erros que possam ocorrer, verificando se o processo está sob controlo ou não.

Neste trabalho são apresentadas cartas de controlo de indivíduos, em que se representa a variação no tempo dos seguintes parâmetros: declives das retas, brancos e padrões de concentração intermédia.

Cartas de controlo do declive

A representação em cartas de controlo de um parâmetro da reta de calibração é um auxiliar na detecção de falhas na metodologia analítica. A análise dos valores do declive pretende avaliar flutuações nas calibrações devidas à resposta do aparelho ou a erros na preparação de padrões e/ou deterioração de reagentes.

As cartas correspondentes aos valores dos declives das curvas de calibração analisadas neste trabalho são apresentadas nas Figuras 5, 6, 7 e 8, respetivamente para nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro.

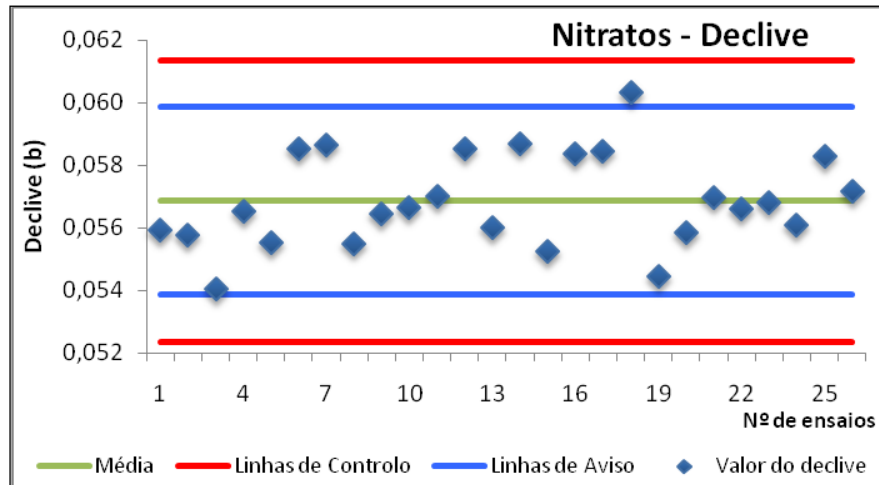


Figura 5 – Carta de controlo para declives de curvas de calibração para análise de nitratos.

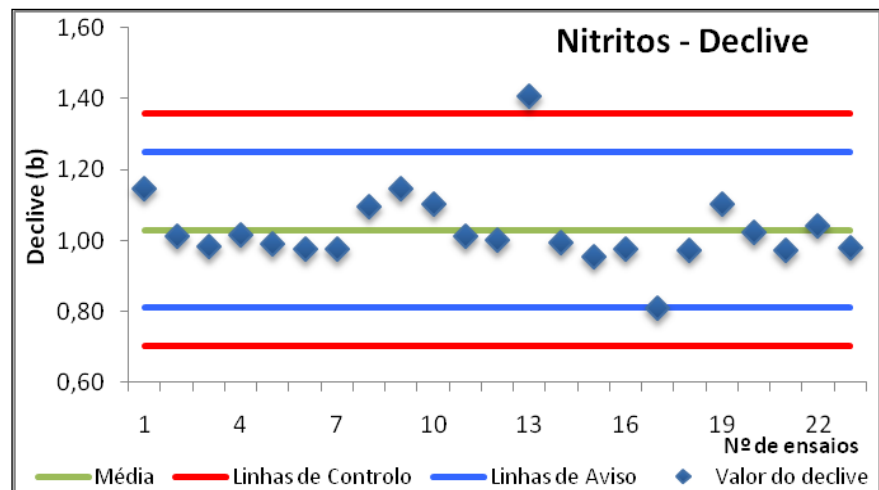


Figura 6 – Carta de controlo para declives de curvas de calibração para análise de nitritos.

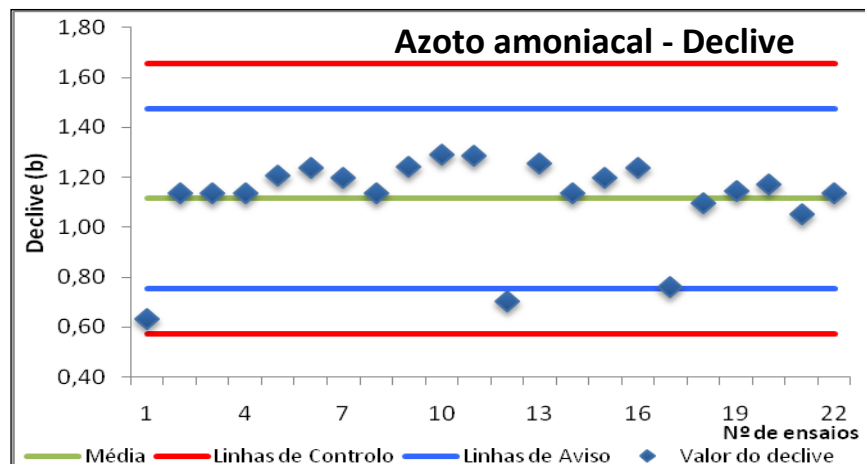


Figura 7 – Carta de controlo para declives de curvas de calibração para análise de azoto amoniacal.

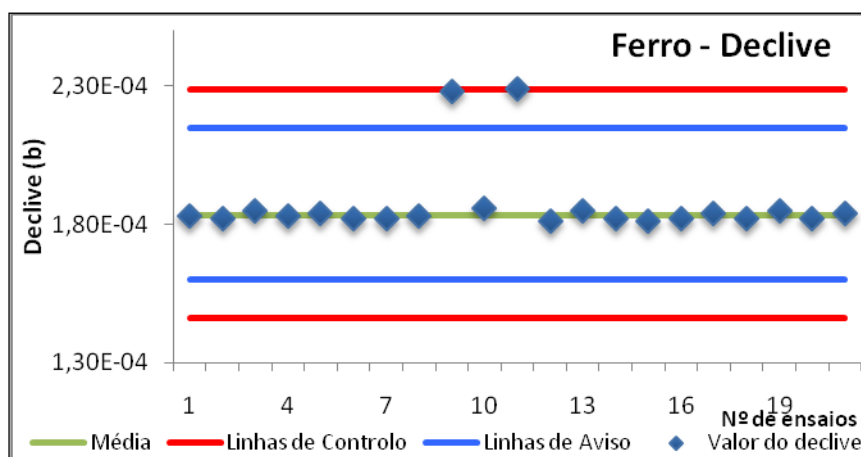


Figura 8 – Carta de controle para declives de curvas de calibração para análise de ferro.

De um modo geral, as cartas de indivíduos servem como indicativo do controlo do processo ao longo do tempo. Para os métodos em análise, verifica-se que apenas para nitratos e azoto amoniacal os processos estiveram sob controlo durante o tempo do estudo, enquanto para nitritos e ferro verificam-se valores que ultrapassam as linhas de controlo, o que deveria acontecer com uma probabilidade de apenas 0,3%. As curvas de calibração destes dias não estavam sob controlo, justificando assim a aplicação de ações de forma a corrigir esta situação.

Cartas de controlo dos brancos

Através da representação da concentração de brancos em cartas de controlo tem-se uma ferramenta de avaliação que deteta eventuais contaminações ou deterioração de reagentes. As Figuras 9, 10, 11 e 12 apresentam as cartas de controlo de indivíduos com representação do sinal de brancos para nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro, respetivamente.

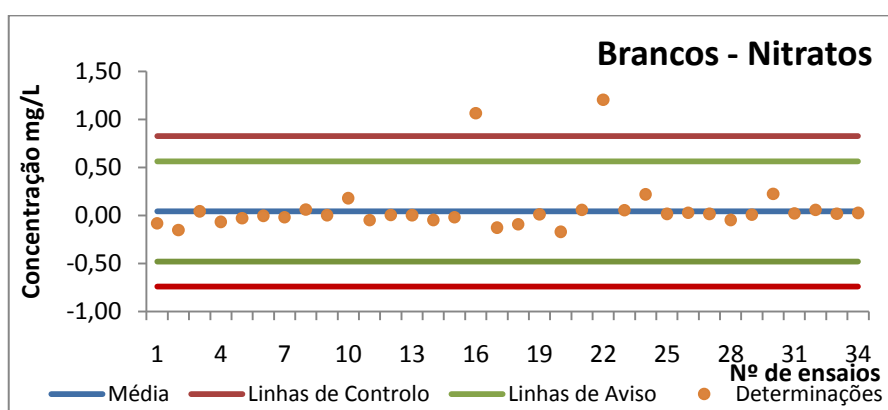


Figura 9 – Carta de controle para valores de brancos para análise de nitratos.

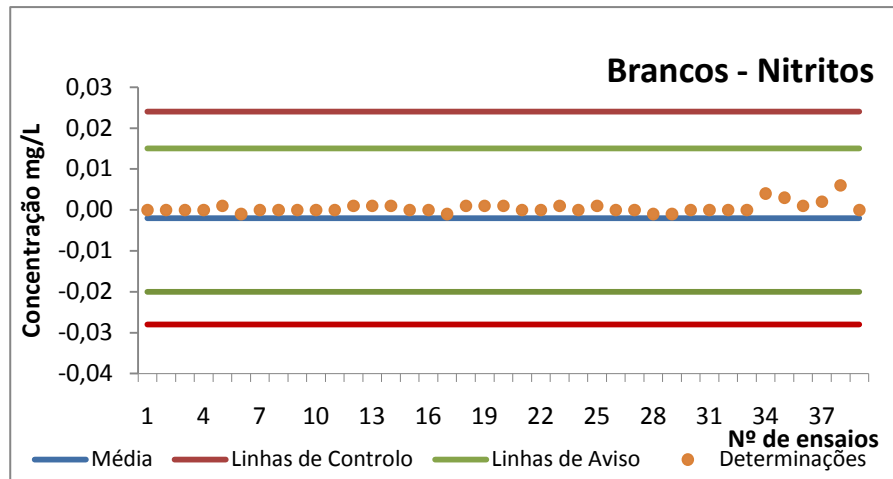


Figura 10 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de nitritos.

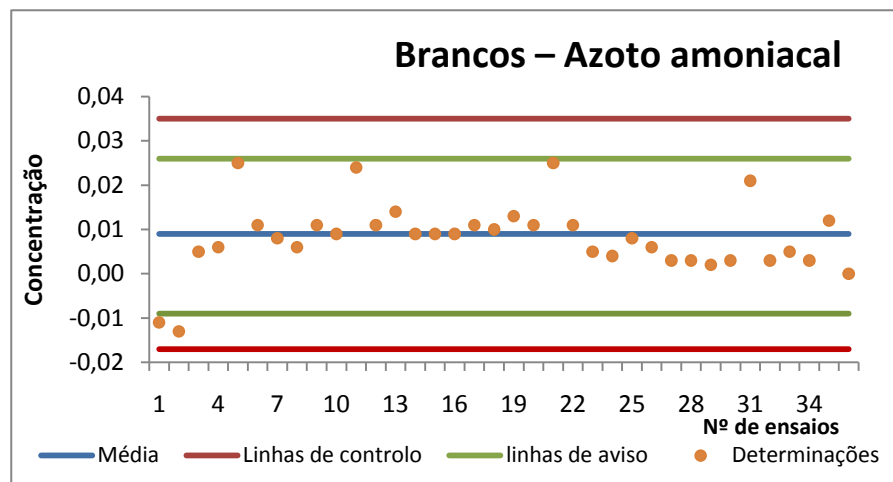


Figura 11 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de azoto amoniacal.

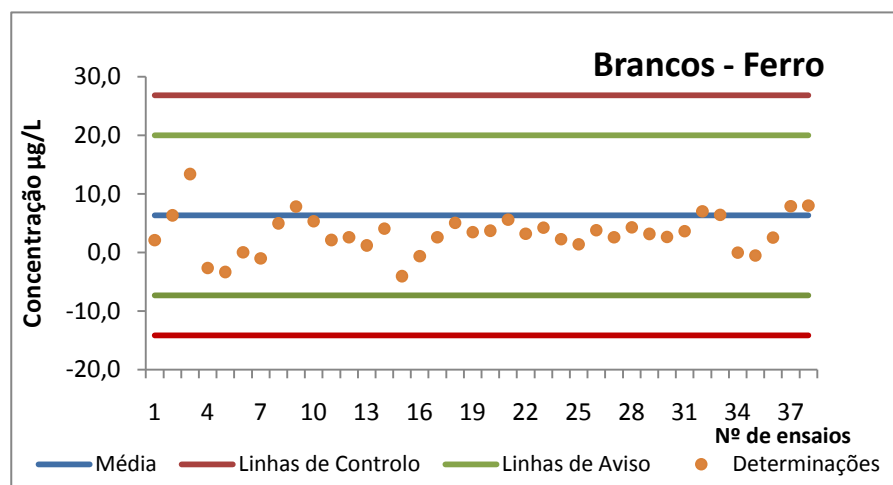


Figura 12 – Carta de controlo para valores de brancos para análise de ferro.

Observando as cartas de controlo dos valores de brancos obtidos ao longo do estágio, verifica-se na carta de nitratos a existência de dois valores acima da linha superior de controlo, o que indica que nessas medições poderá ter ocorrido contaminação ou que os reagentes poderiam estar degradados. Estes valores não deveriam ter sido aceites, uma vez que demonstram que o processo não estava sob controlo, e seria necessário efetuar a repetição da análise dos brancos até se obter um resultado aceitável, para depois prosseguir com a análise das amostras (repetindo as amostras eventualmente afetadas).

Na carta de valores de brancos de nitritos observa-se que os valores são precisos, mas todos superiores à média determinada com valores de vinte determinações anteriores. A probabilidade de se obterem quatro pontos consecutivos do mesmo lado da linha central, devido a causas aleatórias, é de cerca de 6%, pelo que se deve verificar se tal ocorrência foi devida ao acaso ou se reflete a existência de erros no processo.

Os valores de brancos verificados para o azoto amoniacal demonstram um processo sob controlo com flutuações para os dois lados da linha central.

Na análise da carta de controlo de brancos de ferro, verifica-se uma situação semelhante à dos nitritos, uma vez que a maior parte das determinações efetuadas se situa de um lado da linha central.

Cartas de controlo de padrões

As cartas de controlo apresentadas para os padrões de cada método referem-se sempre ao padrão de concentração intermédia, que é o utilizado no controlo de qualidade interno no Laboratório. São apresentadas duas cartas por cada parâmetro, sendo uma referente aos meses de trabalho em 2010 e outra aos meses de 2011 em que decorreu o estágio. A análise de cartas para os padrões é uma ajuda no controlo do equipamento, nomeadamente condições de operação e otimização.

Nas Figuras 13 e 14 estão representados valores de concentração do padrão de concentração intermédia para os nitratos, referentes a 2010 e 2011, respetivamente.

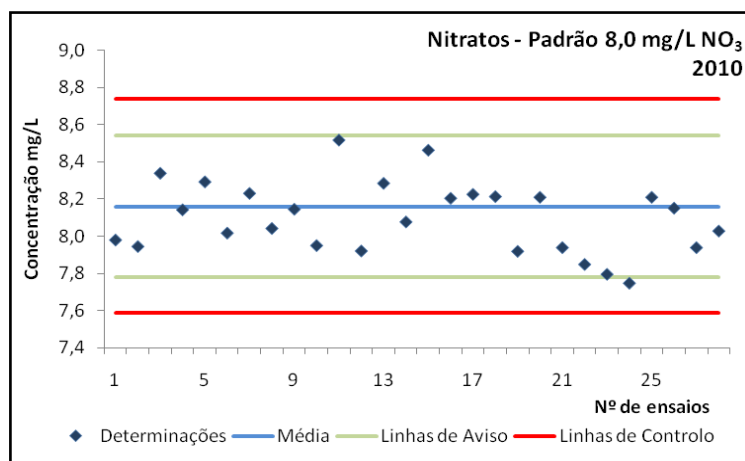


Figura 13 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitratos em 2010.

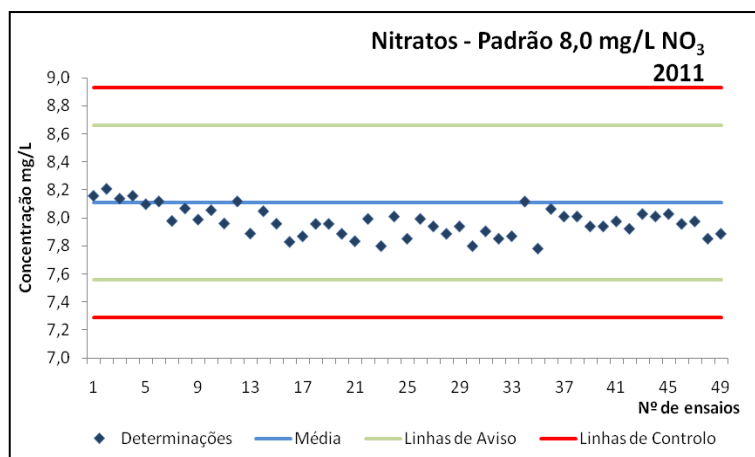


Figura 14 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitratos em 2011.

Observando as cartas de controlo do padrão de nitrato, verifica-se que nos meses de outubro, novembro e dezembro de 2010, o processo esteve sob controlo; no entanto, em 2011, verifica-se que as concentrações obtidas para o padrão estão quase sempre abaixo da linha que representa a média (calculada com 20 valores aleatórios obtidos nos três últimos meses do ano anterior). Justificações para este fato, podem ser a perda de sensibilidade do equipamento de análise ou este não estar ajustado/bem calibrado, perda de analito ou degradação do padrão.

Para o controlo no método de análise de nitritos utilizou-se o padrão intermédio de concentração 0,5 mg/L NO₂. As determinações de 2010 estão representadas na Figura 15 e as de 2011 na Figura 16.

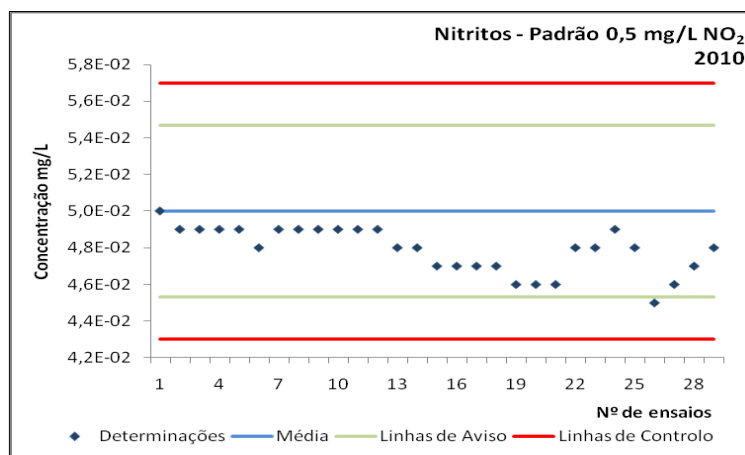


Figura 15 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitritos em 2010.

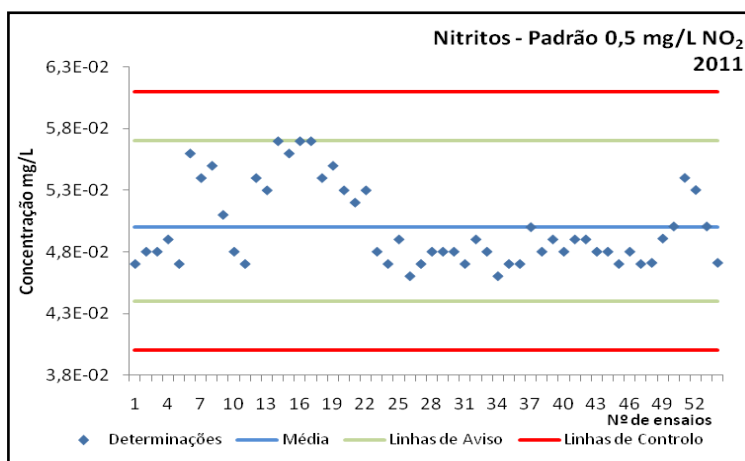


Figura 16 – Carta de controlo da concentração do padrão de nitritos em 2011.

Na carta de controlo dos valores obtidos em 2010 para o padrão intermédio de nitritos, observa-se que os valores obtidos estão sempre abaixo da linha que representa a média, mostrando uma situação semelhante à carta de controlo de 2011 dos nitratos. Nas determinações de 2011, observam-se mais de 4 pontos consecutivos, primeiro no lado superior da linha central e depois no lado inferior. Estes valores merecem uma análise posterior mais cuidada pelo Laboratório, para verificar se não há uma fonte de erro sistemático.

As cartas de controlo para o padrão intermédio de azoto amoniacal de 0,2 mg/L estão representadas nas Figuras 17 e 18, respetivamente para 2010 e 2011.

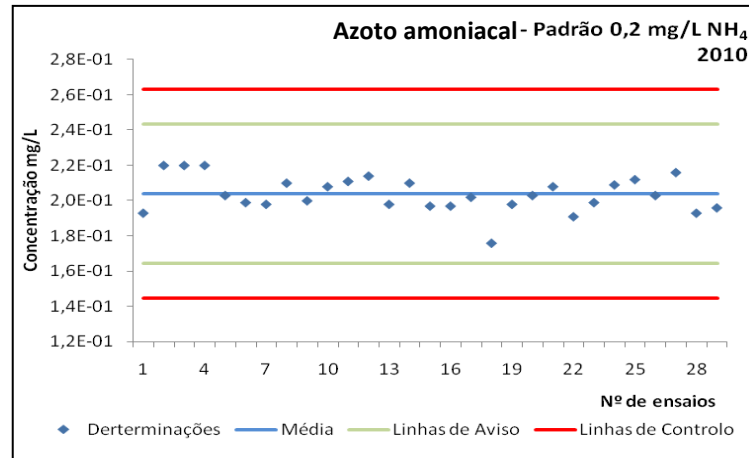


Figura 17 – Carta de controlo da concentração do padrão de azoto amoniacal em 2010.

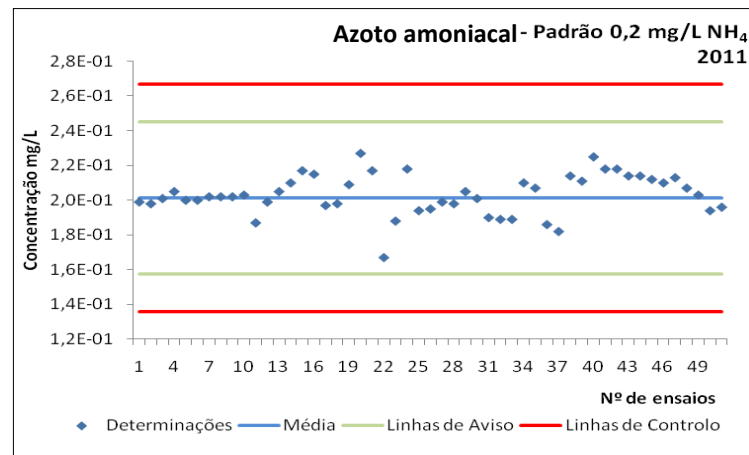


Figura 18 – Carta de controlo da concentração do padrão de azoto amoniacal em 2011.

Na análise das cartas de controlo do padrão intermédio de azoto amoniacal, verificam-se flutuações com valores entre as linhas de aviso, evidenciando um processo sob controlo.

Nas Figuras 19 e 20 representam-se as cartas de controlo do padrão intermédio de concentração 20 µg/L de ferro, para 2010 e 2011, respetivamente.

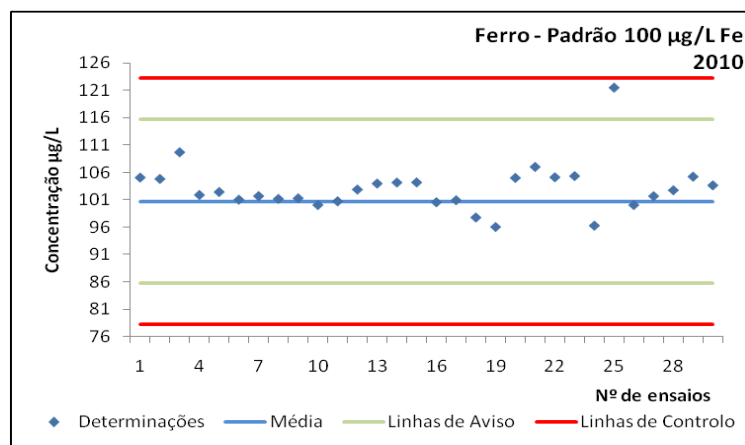


Figura 19 – Carta de controle da concentração do padrão de ferro em 2010.

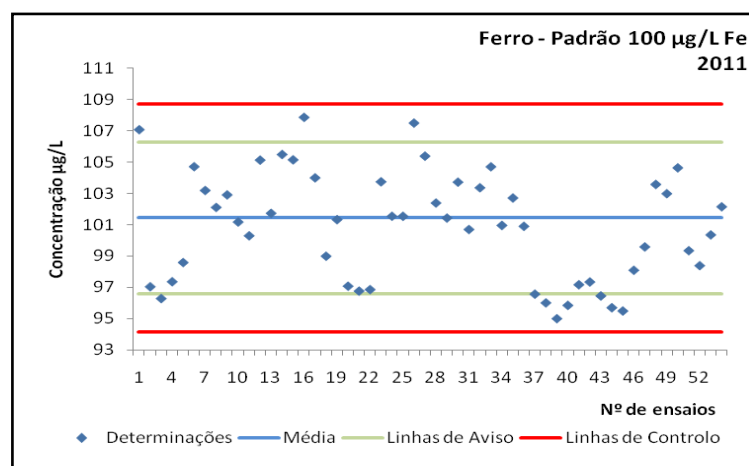


Figura 20 – Carta de controle da concentração do padrão de ferro em 2011.

Observando as cartas de controle para o padrão intermédio utilizado no método de análise de ferro, verifica-se que o processo está sob controle. Na carta correspondente a 2011, os limites das linhas em relação à média são mais pequenos que os limites determinados para 2010, o que pode explicar a existência de alguns valores fora das linhas de aviso em 2011.

Os métodos utilizados para a análise de nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro são métodos que foram adaptados para a análise de águas de consumo humano no Laboratório de Saúde Pública. Numa avaliação geral de todos os resultados, verifica-se que se obtiveram valores de coeficientes de correlação superiores a 0,995, valor estipulado como adequado pela RELACRE (Guia RELACRE, N°13, 2000), logo os métodos têm boa correlação entre o valor da intensidade do sinal e o valor da concentração de cada parâmetro. O estudo da linearidade permitiu comprovar que os métodos apresentam linearidade, ou seja, têm capacidade para gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito.

Verificou-se que o coeficiente de variação dos métodos é sempre inferior a 10%, e sendo este um parâmetro que avalia a qualidade do trabalho do analista, entende-se que existe qualidade no trabalho.

Os limites de detecção e de quantificação obtidos para os parâmetros em estudo, permitem verificar que no método de análise de azoto amoniacal e ferro, foram calculados alguns limites de detecção superiores a 10% do valor paramétrico legislado para esses parâmetros.

O teste de homogeneidade de variâncias aplicado às gamas de concentração de trabalho, permitiu verificar que para os nitritos, azoto amoniacal e ferro as gamas não se encontram ajustadas. Neste caso, dever-se-ia diminuir a gama de concentração dos padrões até os métodos analíticos possuírem variâncias uniformes.

Como controlo de qualidade interno foram efetuadas análises de duplicados de amostras para controlar a precisão dos resultados obtidos e testes de recuperação. Os resultados dos duplicados evidenciaram que os resultados foram precisos, obtendo-se valores inferiores a 10%, requisito interno do Laboratório. Para os valores de recuperação, que devem estar entre 80 a 120% para haver exatidão, verificou-se apenas um valor anómalo para o ferro, estando os restantes dentro do intervalo pretendido. Estas medições só puderam ser realizadas para a análise de nitratos e de ferro, pois para os outros parâmetros não se obtiveram amostras com concentração do analito superiores ao limite de detecção.

As cartas de controlo mostraram que nem sempre o processo de análise esteve sob controlo ao longo do tempo, observando-se valores acima da linha de controlo para os declives de nitritos e ferro e observaram-se também valores consecutivos acima ou abaixo da linha central evidenciando possíveis erros sistemáticos.

De um modo geral e tendo em conta os parâmetros de controlo de qualidade avaliados, os métodos estão sob controlo, com algumas exceções pontuais que devem ser avaliadas com

sentido crítico e corrigidas dentro das possibilidades do laboratório, e sempre tendo em conta as condicionantes orçamentais do mesmo.

Na Tabela 24 encontram-se sumariados os valores do controlo de qualidade obtidos para cada parâmetro.

Tabela 24 – Valores obtidos para o controlo de qualidade efetuado para cada parâmetro.

	Nitratos	Nitritos	Azoto amoniacal	Ferro
Quadrado do coeficiente de correlação (Valor mínimo)	0,9992	0,9993	0,9953	0,9992
Coeficiente de variação do método (Valor máximo)	1,97 %	7,23%	6,31 %	2,96 %
Limite de detecção (Valor mínimo e máximo)	0,055-0,369 mg/L	0,010-0,015 mg/L	0,014-0,083 mg/L	3,29-25,6 µg/L
Limite de quantificação (Valor mínimo e máximo)	0,184-1,23 mg/L	0,033-0,048 mg/L	0,047-0,28 mg/L	11,0-85,3 µg/L
Duplicados (Valor máximo)	8,11 %	-	-	2,46 %
Recuperação (Valor mínimo e máximo)	95,4 – 103,5 %	-	-	63,2 – 117,8 %
Carta Controlo Declive	Valores inferiores às linhas de controlo	1 Valor não aceitável	Valores inferiores às linhas de controlo	2 Valores não aceitáveis
Carta Controlo Brancos	2 Valores não aceitáveis	Valores inferiores às linhas de controlo	Valores inferiores às linhas de controlo	Valores inferiores às linhas de controlo
Carta Controlo Padrões	Valores inferiores às linhas de controlo	Valores inferiores às linhas de controlo	Valores inferiores às linhas de controlo	Valores inferiores às linhas de controlo

3.2 Qualidade das águas de consumo humano analisadas no âmbito do estágio

Durante o decorrer do estágio, entre outubro de 2010 e maio de 2011, foram analisadas 359 amostras de água para consumo humano, provenientes de diferentes origens: 247 amostras são de rede pública, 75 são de fontes ou fontanários e 37 são de furos ou poços. Algumas amostras são submetidas a tratamentos de desinfecção por parte das entidades gestoras e outras não sofrem qualquer tratamento.

Na Figura 21 são apresentadas as percentagens de amostras provenientes de diferentes origens e a percentagem de amostras que sofrem ou não tratamentos químicos para serem disponibilizadas para consumo humano.

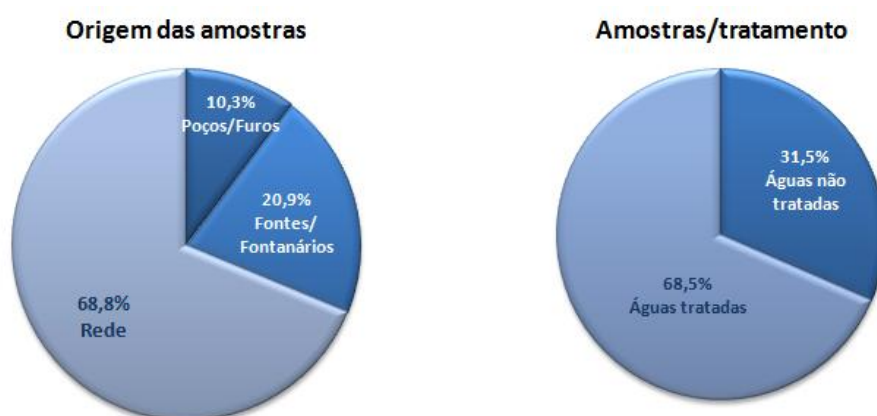


Figura 21 – Percentagens de amostras provenientes de diferentes origens e sujeitas ou não a tratamento.

As amostras de água de consumo humano provenientes de redes de distribuição são a maioria das amostras analisadas no decorrer do estágio. Na Figura 22 relaciona-se a origem das amostras com o tratamento; verifica-se que a quase totalidade das amostras provenientes de rede são de águas que sofrem tratamento para as tornar com qualidade adequada para consumo humano. No caso de amostras provenientes de poços, furo ou fontes, verifica-se que a maioria destas águas não é sujeita a tratamentos.

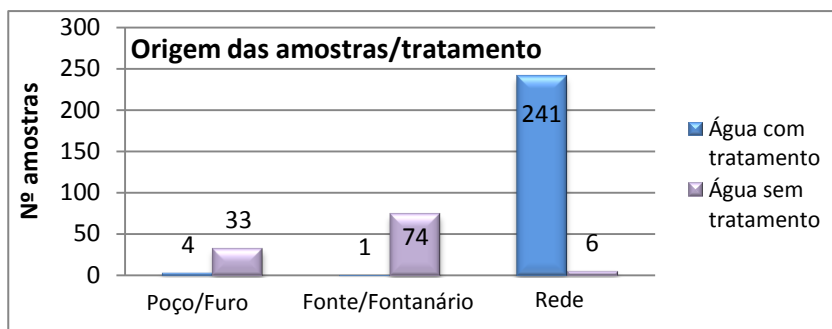


Figura 22 – Número de amostras de diferentes origens sujeitas ou não a tratamento.

As amostras de águas de consumo humano foram classificadas de acordo com os valores paramétricos estabelecidos no Decreto-Lei nº 306/2007. De todas as análises realizadas, 230 (64,1%) amostras cumprem os valores paramétricos para todos os parâmetros quantificados e 129 (35,9%) amostras não cumprem a legislação, ou seja, têm valores superiores ao valor paramétrico para um ou outro parâmetro. A Figura 23 mostra, numa avaliação geral, o cumprimento (ou não) da legislação no que diz respeito aos parâmetros em estudo. Na Figura 24 são relacionados os valores inferiores e os valores superiores ao valor paramétrico com as diferentes origens da água e na Figura 25 relaciona-se com a existência ou não de tratamento.

Cumprimento da legislação



Figura 23 – Percentagem de amostras analisadas que estão de acordo com o valor paramétrico legislado.

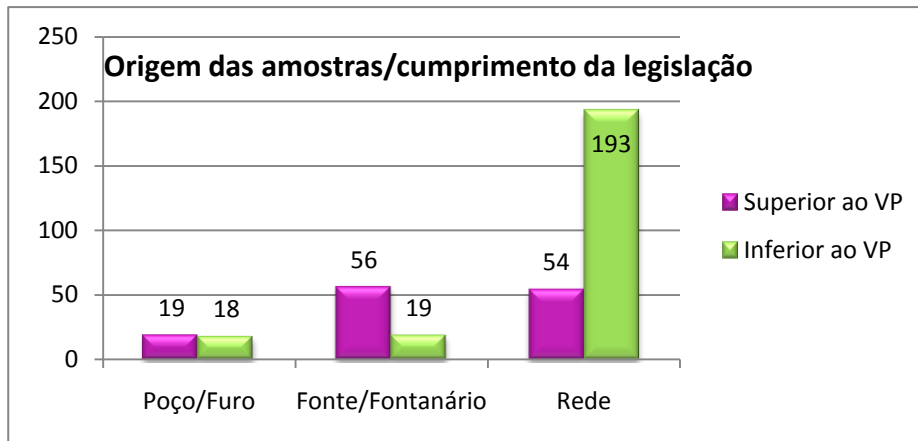


Figura 24 – Número de amostras de diferentes origens que estão de acordo com o valor paramétrico legislado (VP).

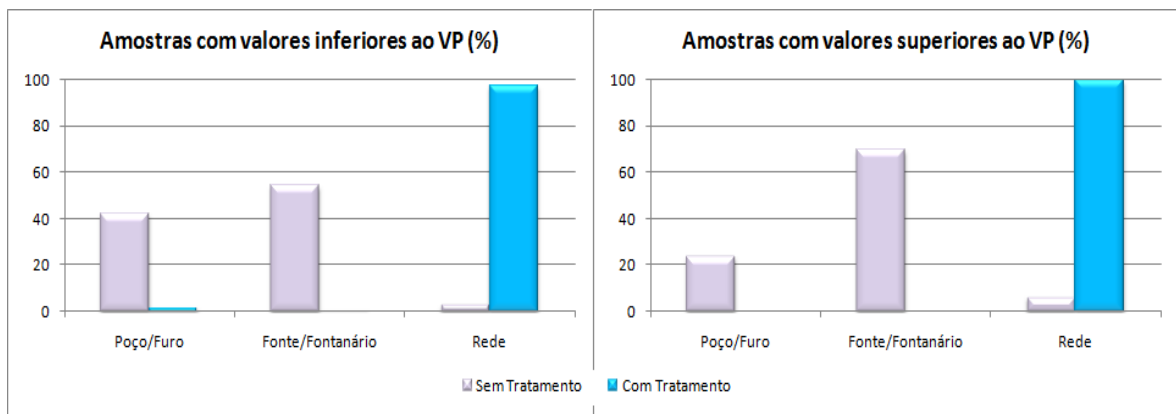


Figura 25 – Percentagem de amostras de diferentes origens que tem valores superiores ou inferiores ao valor paramétrico legislado e foram (ou não) sujeitas a tratamento.

Pela análise das figuras anteriores, verifica-se que um número de amostras equivalente a 43,4% do total de águas analisadas e que não cumprem o estipulado pela legislação são provenientes de fontes ou fontanários, 41,9% são de rede e 14,7% de poços ou furos. Na avaliação das águas que cumprem a legislação, verifica-se que 83,9% são provenientes de redes de distribuição e apenas 8,3% e 7,8% são águas provenientes de fontes ou fontanários e poços ou furos, respetivamente.

Na Figura 25 observa-se que as percentagens de amostras de diferentes origens que tem resultados inferiores ou superiores ao valor paramétrico, têm uma distribuição de acordo com a distribuição geral apresentada na Figura 22. Todas as águas provenientes de poços, furos, fontes ou fontanários que sofreram tratamento apresentam valores inferiores ao valor paramétrico. Em

águas não tratadas, a maior percentagem de incumprimento da legislação observa-se para poços, furos, fontes ou fontanários.

Na Tabela 25 estão apresentadas as percentagens de amostras com valores superiores aos valores paramétricos para cada parâmetro analisado.

Tabela 25 – Número de análises por parâmetro e percentagem de resultados superiores ao valor paramétrico.

Parâmetro	Número de análises	Valor paramétrico		Valores superiores ao valor paramétrico (%)
Cor	359	20	Escala Pt/Co	0,6
Cheiro	359	3 (25°C)	Taxa de diluição	0,3
Turvação	359	4	NTU	0,6
pH	359	$\geq 6,5 \leq 9$	Escala Sorënsen	34
Oxidabilidade	359	5	mg/L O ₂	0
Condutividade	359	2500	µS/cm (20°C)	0
Nitratos	359	50	mg/L NO ₃ ⁻	3,1
Nitritos	359	0,5	mg/L NO ₂ ⁻	0,3
Azoto amoniacal	359	0,50	mg/L NH ₄ ⁺	0,3
Ferro	359	200	µg/L Fe	1,1
Cloretos	243	250	mg/L Cl ⁻	0
Sulfatos	244	250	mg/L SO ₄ ²⁻	0,4
Manganês	72	50	µg/L Mn	5,5

O parâmetro pH é o que tem maior percentagem (34%) de amostras que não cumprem o imposto pela legislação, seguindo-se os nitratos (3,1%), ferro (1,1%) e manganês (5,5%). Na Figura 26 apresenta-se o número de amostras que cumprem e que não cumprem o valor paramétrico para cada parâmetro.

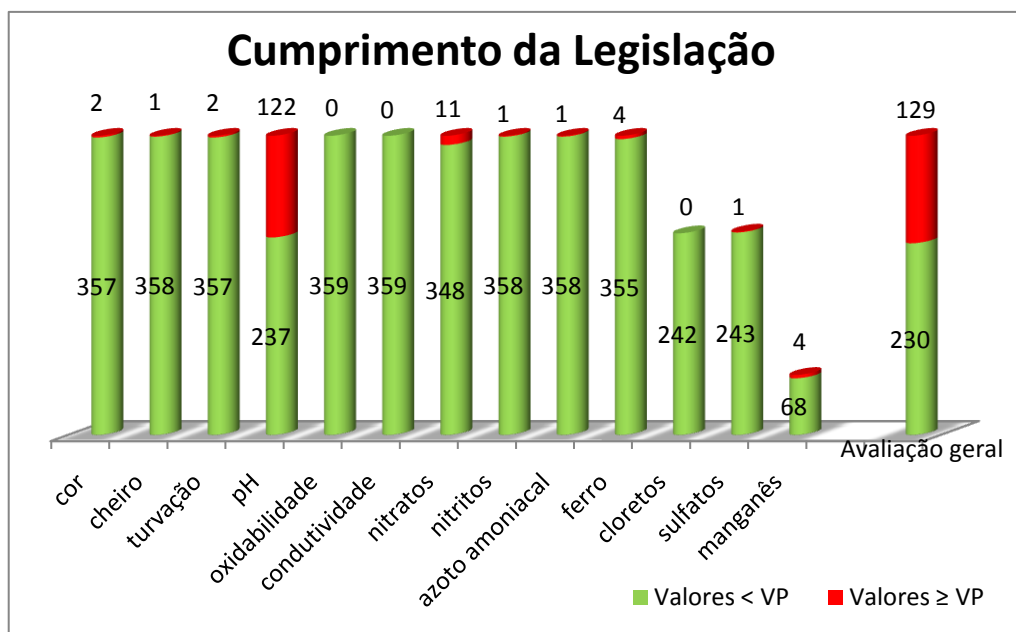


Figura 26 – Número de amostras que cumprem a legislação por parâmetro.

Como se observa na Figura 26, o parâmetro pH é o que mais frequentemente não esteve de acordo com a legislação; das amostras analisadas 39,3% eram de águas tratadas provenientes de redes de distribuição e 60,7% eram não tratadas provenientes de poços, furos, fontes e fontanários. O controlo do pH é importante, uma vez que quando a água apresenta valores muito baixos (inferiores a 6,5) pode provocar corrosão nas tubagens onde circula a água e induzir a dissolução de metais, o que eventualmente se pode traduzir na existência de teores elevados de alguns metais tóxicos em águas de consumo humano. Outro parâmetro em que se verificou maior número de amostras com valores acima do valor paramétrico foi para os nitratos.

Nas Figuras 27, 28, 29 e 30 relaciona-se a origem das amostras com os valores obtidos, respetivamente para nitratos, nitritos, azoto amoniacal e ferro.

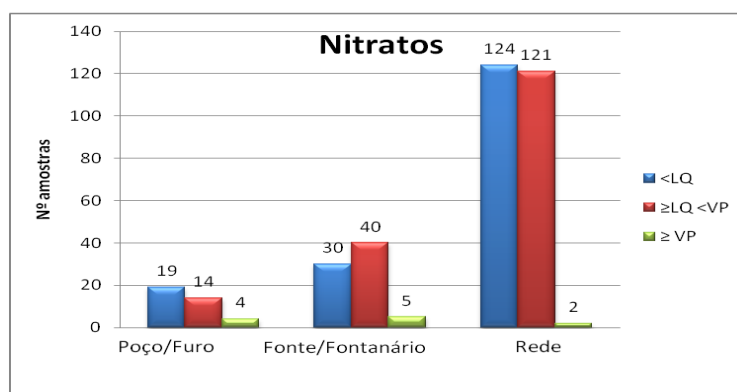


Figura 27 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para os nitratos.

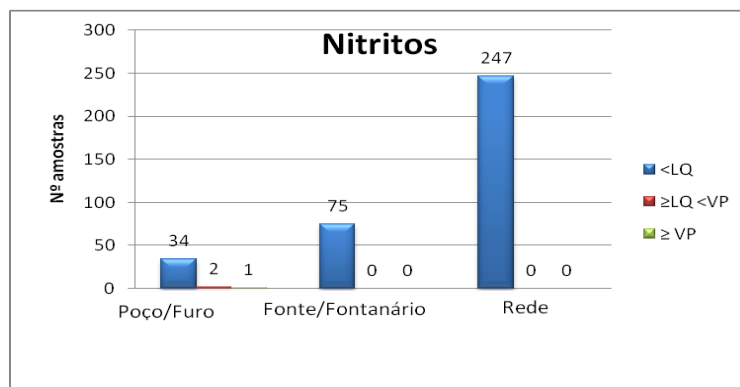


Figura 28 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para os nitritos.

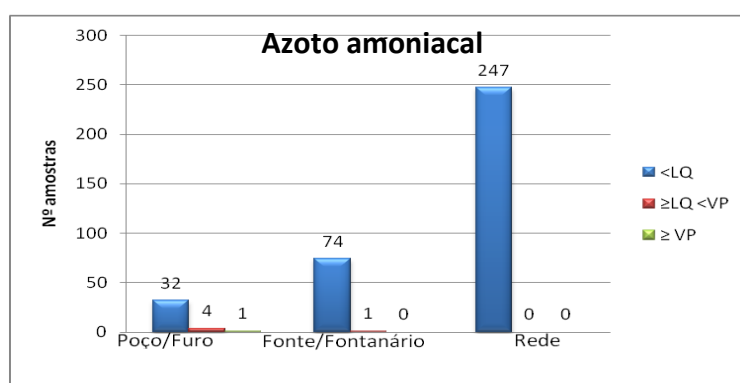


Figura 29 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para o azoto amoniacal.

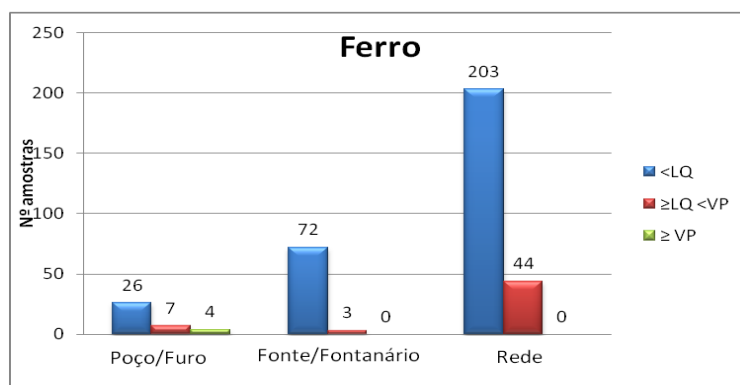


Figura 30 – Classificação das amostras de acordo com o local de origem para o ferro.

Observando as figuras anteriores, verifica-se que na maioria das amostras analisadas os valores obtidos foram inferiores aos limites de quantificação e que os valores obtidos, superiores ao valor paramétrico, foram determinados em águas de poços, furos, fontes e fontanários, sendo que apenas duas amostras revelaram a presença de nitratos com concentração acima do permitido na rede de distribuição.

Na Figura 27 observa-se que o número de amostras em que foi possível efetuar a quantificação de nitratos, é semelhante ao número de amostras em que se verificam valores abaixo do limite de quantificação, resultado que pode ser justificado por em alguns concelhos de Aveiro a prática de agricultura ser comum, o que pode levar a contaminações das águas por fertilizantes azotados. As duas amostras provenientes de rede em que se obtiveram valores superiores ao valor paramétrico são de águas não tratadas.

De todas as amostras de água analisadas para nitritos e azoto amoniacal, observou-se que apenas 3 amostras tinham concentração de nitritos acima do limite de quantificação, observando-se um valor acima do valor paramétrico; na análise de azoto amoniacal verificaram-se apenas 6 amostras com concentração acima do limite de quantificação, sendo um valor acima do valor paramétrico. O incumprimento do valor paramétrico para nitritos e azoto amoniacal observou-se numa amostra colhida no mês de abril, proveniente de um furo que apresentava também cor, cheiro e uma concentração de ferro superior a 200 µg/L (valor paramétrico). Nesta amostra não se quantificaram os nitratos e o valor de pH estava dentro dos limites impostos pela legislação. O fato de a amostra apresentar nitritos e azoto amoniacal e não apresentar nitratos, sugere que no furo de onde a água foi colhida poderá haver condições reduzidas de oxigenação, não favorecendo por isso a conversão dos compostos de azoto amoniacal e nitritos em nitratos, podendo revelar também uma contaminação recente com compostos azotados. Na análise da figura com os valores de ferro, Figura 30, observa-se que na maioria das amostras não há presença de ferro acima do limite de quantificação. No entanto, quando este metal foi quantificado em amostras de água, estas eram maioritariamente amostras de água provenientes de redes de distribuição. Uma justificação para esta situação pode ser o material das tubagens que contactam com a água ser de metal e, em caso de degradação das mesmas, poder ocorrer dissolução de ferro nas águas de consumo humano. No entanto não foi observado nenhum valor superior ao paramétrico, não havendo assim perigo para a saúde pública.

Os resultados obtidos nas amostras para as concentrações de nitratos, nitritos e azoto amoniacal foram relacionados com os meses de recolha das amostras, no sentido de observar a variação da concentração destes compostos com meses mais chuvosos, mas os resultados obtidos não permitem retirar interpretações conclusivas. Enquanto em zonas de atividade agrícola seria previsível que na época de chuva ocorresse lixiviação dos terrenos e arrastamento de nitratos para aquíferos, com consequente aumento de concentração na água, em zonas urbanas não seria

de esperar um aumento da concentração de nitratos, mas o contrário, pois com o aumento do caudal de água a concentração de nitratos seria diluída.

Numa análise geral dos resultados, entende-se que a vigilância destes parâmetros é importante, pois apesar de a maioria das amostras estar em conformidade com a legislação, existem parâmetros que por vezes estão fora do valor paramétrico, como os parâmetros pH e nitratos. A monitorização das águas não sujeitas a tratamento, maioritariamente águas de poços, furos, fontes e fontanários, ganha especial relevo, pois são águas que frequentemente servem pequenos agregados populacionais, que nem sempre estão sensibilizados para a importância da monitorização periódica da qualidade da água que consomem.

Apesar de o pH não ter efeitos nocivos diretos na saúde dos consumidores, a análise deste parâmetro é importante, pois valores anormais podem degradar as tubagens metálicas por onde passa a água e induzir a libertação de metais que se dissolvem na água destinada ao consumo humano, colocando em risco a saúde dos consumidores. Por outro lado, a vigilância dos níveis de nitratos é também importante pois a grande maioria dos poços, furos e fontes localizam-se perto de habitações e terrenos agrícolas, estando desta forma próximos de fontes de contaminação de nitratos como sejam as fossas sépticas particulares e solos ricos em fertilizantes azotados que se infiltram nas águas subterrâneas.

Valores elevados de nitritos e azoto amoniacal não foram observados, excepto em condições de pouca oxigenação. No entanto, a sua análise é importante pois a presença de nitritos e nitratos em água de consumo humano pode levar a reações com aminas e amidas, no estômago, formando-se nitrosaminas e nitrosamidas que têm propriedades cancerígenas. O azoto amoniacal em concentrações acima de 0,5 mg/L NH_4^+ afecta a eficiência dos tratamentos de desinfecção, pois reage com o cloro disponível, resultando em compostos eventualmente cancerígenos que, presentes em águas de consumo são prejudiciais para a saúde dos consumidores.

No total de amostras analisadas, para os parâmetros condutividade, oxidabilidade e cloretos não se observou nenhum valor acima do respetivo valor paramétrico, sugerindo que estes parâmetros não são problemáticos nas zonas de recolha das amostras analisadas.

Capítulo 4

CONCLUSÕES

Conclusões

Os métodos analíticos utilizados no Laboratório de Saúde Pública de Aveiro para a determinação dos parâmetros nitratos, nitritos e ferro em águas de consumo humano, são adaptados do “*Standard methods for the examination of water and wastewater*” (SMEWW, 2005) e o método de análise de azoto amoniacal em água de consumo humano adaptado de “*L’analyse de l’eau: eaux naturelles; eaux résiduaires; eau de mer*” (Rodier, 1996).

O estudo realizado para os parâmetros das curvas de calibração, coeficientes de variação do método, gama de trabalho, limite de detecção e quantificação e a avaliação do processo analítico através de cartas de controlo, permite concluir que:

- Para todas as retas de calibração efetuadas verificaram-se valores de coeficiente de correlação superiores a 0,995, comprovando-se linearidade para a gama de concentrações usadas e verificando-se valores de coeficiente de variação do método inferiores a 10%, que comprovam a precisão dos métodos.
- Para os nitratos e nitritos verificou-se que os limites de detecção são pelo menos 10% do valor paramétrico respetivo, estipulado no Decreto-lei nº 306/2007; obtiveram-se alguns limites de detecção mais elevados nos métodos de análise de azoto amoniacal e ferro.
- As cartas de controlo de declives, valores de brancos e de padrões intermédios, permitem concluir que nem sempre o processo esteve sob controlo, verificando-se alguns valores anómalos e eventuais erros sistemáticos.

O controlo de qualidade dos métodos é assim necessário antes de se proceder a análises de amostras de águas de consumo humano, de forma a obter-se um maior rigor e qualidade nos resultados.

No âmbito do trabalho de estágio realizado, avaliou-se também a qualidade das águas de consumo humano analisadas no laboratório, tendo-se verificado que 39,5% das 359 amostras analisadas apresentavam concentrações de um ou mais parâmetros superiores ao valor paramétrico da legislação, sendo por isso consideradas impróprias para consumo humano.

O parâmetro que mais frequentemente foi observado fora do valor paramétrico foi o pH (34%), seguindo-se os nitratos (3,1%). Águas não tratadas são as mais suscetíveis de sofrer contaminações, são águas com menor vigilância e são normalmente provenientes de poços, furos, fontes e fontanários. Amostras deste tipo de águas foram as que registaram maior número de valores superiores aos valores paramétricos estipulados no Decreto-lei nº 306/2007 para cada

parâmetro. Em águas tratadas e provenientes de rede não se observaram valores acima do valor paramétrico, com exceção do parâmetro pH.

Tendo em consideração os valores obtidos para as águas não tratadas, seria importante a sensibilização da população do distrito de Aveiro acerca do risco do consumo destas águas, uma vez que ainda existe um grande número de abastecimentos particulares, que servem menos de 50 pessoas ou são objeto de consumo inferior a 10 m³/dia, nomeadamente em meios rurais. Estas águas não são vigiadas a não ser que os próprios particulares requisitem análises à qualidade da água do seu poço ou furo, estando assim, sujeitos ao consumo de água sem qualidade.

Uma vez que os resultados obtidos são referentes apenas a oito meses de colheitas, não se torna possível estabelecer uma relação entre a qualidade da água e possíveis efeitos na saúde pública, pois os efeitos de contaminação química em águas de consumo humano ocorrem a longo prazo.

Capítulo 5

BIBLIOGRAFIA

Bibliografia

- Barata, A. A. 2006. Poupar água, prevenir o futuro: Guia do professor. *Quercus ANCN*.
- Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P. 2004. *Food Chemistry*. Berlin. 3rd ed. Springer.
- Carneiro, C. S. F. 2007. *O Ciclo Urbano da Água – Uma Abordagem Pedagógica*. Dissertação de Mestrado em Física e Química para o Ensino. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real.
- Chang, Chih-Ching., Chen, Chih-Cheng & Wu, Deng-Chuang. 2010. Nitrates in drinking water and the risk of death from retal cancer: does hardness in drinking water matter. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 73: 1337–1347.
- Chen, N., Hong, H., Zhang, L., Cao, W. 2008. Nitrogen sources and exports in an agricultural watershed in Southeast China. *Biogeochemistry*. 87: 169-179.
- Cozzi, S. & Giani, M. 2000. Determination of Organic Nitrogen and Urea. In: *Handbook of water analysis*. New York, Marcel Dekker
- Decreto-Lei nº 243/2001 - Diário da Republica, I série – A, Nº 206, 5 de Setembro de 2001.
- Decreto-Lei nº 306/2007 - Diário da Republica, I série, Nº 164, 27 de Agosto de 2007.
- Doria, M., Pidgeon, N., Hunter, P. R. 2009. Perceptions of drinking water quality and risk and effect on behavior: A cross-national study. *Science of the Total Environment*. 407: 5455-5464.
- Fan, A. M. 2011. Nitrate and Nitrite in Drinking Water: A Toxicological Review. *California Environmental Protection Agency*. pg . 137-145.
- Gadgil, A. 1998. Drinking water in developing countries. *Annual Review of Energy and the Environment* . 23: 253–86
- Gleick, P. H. 2003. Water Use. *Annual Review of Environment and Resources*. 28: 275-314.

- Grinsven, H. J. M., Rabl, A. & Kok, T. M. 2010. Estimation of incidence and social cost of colon cancer due to nitrate in drinking water in the EU: a tentative cost-benefit assessment. *Environmental Health*. 9: 58.
- Guia ISO/CEI 25 (1990). General requirements for the competence of calibration and testing laboratories. International Organization for Standardization. Genève.
- Guia ISO/CEI 43 (1984). Development and operation of laboratory proficiency testing. International Organization for Standardization. Genève.
- Guia RELACRE, Nº 3: Validação de resultados em laboratórios químicos, 1996. Lisboa.
- Guia RELACRE, Nº 9: Alguns exemplos de cartas de controlo em laboratórios de análise química, 1998. Lisboa.
- Guia RELACRE, Nº13: Validação de métodos internos de ensaio em análise química, 2000. Lisboa.
- Gulis, G., Czompolyova, M. & Cerhanw, J. R. 2002. An Ecologic Study of Nitrate in Municipal Drinking Water and Cancer Incidence in Trnava District, Slovakia. *Environmental Research Section A*. 88: 182-187.
- Hageskal, G.; Lima, N. & Skaar, I. 2009. The study of fungi in drinking water. *Mycological research*. 113:165-172.
- Hammer, M. J. & Hammer, M. J. Jr. 1996. *Water and wastewater technology*. New Jersey. 3rd ed. Prentice Haal.
- IPAC. 2010. Guia para a acreditação de laboratórios químicos. Instituto Português da Acreditação.
- ISO 8466-1 (1990). Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics. Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function. International Organization for Standardization. Genève.
- Kay, B. H. 1999. *Water resources: Health, environment and development*. London and New York. E & FN Spon.

- Kegleyand, S. & Andrews, J. 1998. The Chemistry of water. California, University science books sausalito.
- Manassaram, D. M., Backer, L. C. & Moll, D.M. 2006. A Review of Nitrates in Drinking Water: Maternal Exposure and Adverse Reproductive and Developmental Outcomes. *Environmental Health Perspectives*. 114: 3.
- Manassaram, D. M., Backer, L. C., Messing, R., Fleming, L. E., Luke, B. & Monteilh, C. P. 2010. Nitrates in drinking water and methemoglobin levels in pregnancy: a longitudinal study. *Environmental Health*. 9: 60.
- Mendes, B. & Oliveira, J. F. S. 2004. *Qualidade da água para consumo humano*, Lisboa, Lidel - Edições Técnicas.
- Militão, C. M. T. 2004. *Estudo do ciclo do azoto: uma aplicação para o ensino*. Dissertação de Mestrado. Departamento de Botânica. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Miller, J. C. & Miller, J. N. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, London, 5rd ed. Pearson Education.
- Nielsen, S. S., Mueller, B. & Kuehn, M. 2008. An evaluation of semi-quantitative test strips for the measurement of nitrate in drinking water in epidemiologic studies. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 18: 142–148.
- NP EN 45001 (1990). Critérios gerais para o funcionamento da laboratórios de ensaio. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP EN ISO 9001:2000 (2001). Sistemas de gestão da qualidade – Requisitos. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Olaoye, O. A. & Onilude, A. A. 2009. Assessment of microbiological quality of sachet-packaged drinking water in Western Nigeria and its public health significance. *Public Health*. 123: 729– 34.
- Peixoto, J. P. 1979. *O ciclo da água em escala global*, Comissão Nacional do Ambiente, Lisboa.
- Quevauviller, F. & Thompson, K. C. 2006. *Analytical Methods for Drinking Water: Advances in sampling and analyses*. England. John Wiley & Sons, Inc.

- Ramesh, S., Sukumaran, N., Murugesan, A. G., Rajan, M. P. 2010. An innovative approach of Drinking Water Quality Index – A case study from Southern Tamil Nadu, India. *Ecological Indicators*. 10: 857-868.
- Rodier J. 1996. *L'analyse de l'eau: eaux naturelles; eaux résiduaires; eau de mer*, Édition. Dunod, Paris.
- Schriks, M., Heringa, M. B., Kooi, M., Voogt, P., Wezel, A. 2010. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water Research*. 44: 461-476.
- SMEWW. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. 21th ed.
- Ustyugova, I. V., Zeman, C., Dhanwada, K. & Beltz, A. Arch. 2002. Nitrates/Nitrites Alter Human Lymphocyte Proliferation and Cytokine Production. *Environmental Contamination and Toxicology*. 43: 270–276.
- Vitale, K., Janev-Holcer, N., Marinković, N. & Pavić, T. 2005. Water and public health: legislation as a tool for improving living standards. *Modern Tools and Methods of Water Treatment for Improving Living Standards*, 295–306.
- Voet, D. & Voet, J. G. 2011. *Biochemistry*. USA. 4rd ed., John Wiley & Sons, Inc.
- Waite, T. D. 1984. *Principles of Water Quality*, Orlando, Academic Press.
- Ward, M. H., Kok, T. M., Levallois, P., Brender, J., Guils, G., Nolan, B. T. & VanDerslice, J. 2005. Workgroup report: drinking-water nitrate and health – recent findings and research needs. *Environmental Health Perspectives*. 11: 1607-1614.
- WHO. 2011. Guidelines for Drinking-water quality. Geneva. World Health Organization. 4rd ed.
- Zuane, J. 1990. *Handbook of drinking water quality: Standards and Controls*, Van Nostrand Reinhold, New York.

Referências electrónicas

- [1] <http://ga.water.usgs.gov/edu/watercycle.html> (acesso em outubro de 2011).
- [2] <http://www.inag.pt/inag2004/port/divulga/pdf/AAguadaOrigemaoConsumidor.pdf> (acesso em setembro de 2011).
- [3] http://www.gov-civil-aveiro.pt/ver_documento.php?id=2032011163327 (acesso em dezembro de 2010).
- [4] <http://www.eb1-vilarinho-cacia.rcts.pt> (acesso em setembro de 2011)